



IMMOTA FIDES

**Comando
del Corpo
Veterinario
dell'Esercito**



Numero

6

Supplemento alla

**RIVISTA
MILITARE**

RIVISTA MILITARE DI MEDICINA VETERINARIA



1861, Ufficiale del Corpo Veterinario.

Appresa con ritardo e quasi per caso la notizia della prematura scomparsa del Prof. Mario Compagnucci, attivo e valente ricercatore, nonché collaboratore di questa rivista, la Direzione e la Redazione esprimono le più sentite condoglianze ai familiari.



QUADRIMESTRALE

Supplemento al n° 4/1993
della Rivista Militare

Direttore Responsabile

Gen. B. Pier Giorgio Franzosi

Direttore Editoriale

Magg. Gen. Domenico Nesci

Redattore Capo

Cap. Massimiliano Angelini

Comitato di Redazione

R. Archilei, L. Bellani, L. Bignozzi, G. Caputo, G. Catellani, A. Corrias, L. D'Esposito, G. Gentile, A. Gobetto, G.B. Graglia, F. Guarda, D. Minori, F. Monti, G. Morei, A. Rogheto, L. Rosso, A. Sala, A. Silvestri, A. Triani, V. Vittucci.

Comitato Scientifico

E. Arru, T. Balbo, B. Baldelli, G. Ballarini, G. Cardini, S. Carli, L. Casarosa, O. Catarisani, A. Ciorba, A. Corrado, P. Galati, C. Girardi, A. Leopold, E. Maglione, S. Maletto, L. Masetti, C. Montesissa, E. Parisi, A. Persechino, C. Peruccio, G. Pezzoli, A. Piloni, G. Pompa, L. Pozzi, A. Romagnoli, F. Scatozza, F. Trenti, F. Valfrè.

Fotolito: Studio Lodoli, Roma



Stampa: Artigrafiche de Angelis s.r.l. - Roma

INDICE

Numero

6

La Rivista Militare di Medicina Veterinaria ha lo scopo di consentire agli Ufficiali un costante aggiornamento tecnico-professionale fornendo loro la possibilità di divulgare le esperienze scientifiche maturate in ambito militare. Nel quadro della collaborazione Esercito-Pace la Rivista si prefigge l'obiettivo di facilitare lo scambio di conoscenze e di esperienze fra il mondo accademico e la veterinaria militare.

- 2 Studio comparativo sugli effetti radioindotti a livello citogenetico; indice 3-aminobenzamide.

Catena Carlo, Conti Daniela, Villani Paola, Nastasi Rosanna, Archilei Roberto, Righi Enzo



- 16 I gruppi sanguigni del cane. Storia, sierologia, genetica e frequenza.

Continanza Rosmary, Campanella Oddo Fausto, Lubas George



- 27 Dermatomicosi da aspergillus spp. in cavalli.

Liberti Luigi, Tesei Beniamino



- 33 Normative sanitarie relative ai cavalli sportivi e da competizione e controlli diagnostici su soggetti importati ed esportati (1982-1992)

Codazza Danilo, Sala Vittorio, Cugini Francesca Pamela, Gerola Luigina

- 40 Trattamento chirurgico di un caso di recisione traumatica completa dei tendini flessori delle falangi e lacerazione parziale del legamento sospenditore del nodello

Marino Mario



- 44 Vita di Corpo: ieri e oggi

La pubblicazione dei lavori è subordinata alla valutazione del Comitato di Redazione ed i testi e il materiale illustrativo inviati non verranno restituiti. Le opinioni espresse dagli Autori non impegnano la responsabilità della Rivista. I lavori inviati per la pubblicazione dovranno essere inediti; le eventuali tabelle, figure e grafici dovranno essere numerati e corredati da una sintetica didascalia; la bibliografia dovrà essere redatta correttamente. Ciascun articolo, inoltre, dovrà essere accompagnato da un breve riassunto in italiano e in inglese, da una foto a colori formato tessera e da un curriculum vitae dell'Autore. I lavori, in duplice copia, nella stesura definitiva, corretti e firmati dall'Autore, dovranno essere indirizzati a:

Comando del Corpo Veterinario dell'Esercito, Piazza Maresciallo Giardino, 49 - 00195 Roma.

STUDIO COMPARATIVO SUGLI EFFETTI RADIOINDOTTI A LIVELLO CITOGENETICO; INDICE 3-AMINOBENZAMIDE

Catena C. (*), Conti D (), Villani P. (***), Nastasi R. (****),
Archilei R. (*****), Righi E. (*****).**



RIASSUNTO

Viene descritto uno studio comparativo sulla variabilità intraspecifica ed interspecifica (uomo - cane - hamster cinese) della risposta citogenetica al trattamento «in vitro» con raggi X.

Si è potuto rilevare che i linfociti del cane sono lievemente, ma significativamente, più radiosensibili di quelli umani.

Il danno genotossico radioindotto (micronuclei) è risultato progressivamente crescente, a parità di dose, nel seguente ordine: hamster cinese (linea CLI/AAF), linfociti umani, linfociti canini.

Questo comportamento radiobiologico si correla coerentemente con il numero cromosomico delle tre specie considerate (rispettivamente 22, 46, 78 cromosomi).

La capacità di modulazione, da parte della cellula, del danno radioindotto attraverso la riparazione del danno al DNA è valutata mediante esperienze con l'inibitore 3-aminobenzamide (indice 3AB).

La risposta riparativa è funzione della variabilità individuale (radiosensibilità individuale). L'ampiezza di tale risposta è comunque confrontabile nell'ambito della specie umana e canina.

È discussa l'applicabilità del metodo proposto (test di micronuclei con indice 3AB) sulla base della molteplicità delle risposte che esso stesso consente e in funzione della congruità globale dei comportamenti radiobiologici rilevati nelle specie esplorate (medicina specie-specifica e comparata).

SUMMARY

A study comparing the intraspecific and interspecific (man-dog-Chinese hamster) variability of the cytogenetic response to «in vitro» X-ray treatment is described.

The canine lymphocytes were found to be slightly, but significantly, more radiosensitive than the human lymphocytes.

The X-ray-induced genotoxic damage (micronuclei) increased progressively with increasing dose as follow: Chinese hamster (CLI/AF cell line), human lymphocytes, canine lymphocytes.

Such radiobiological behaviour is consistent with the chromosome number of the three species considered (respectively, 22, 46 and 78 chromosomes).

The capacity of the cell to modulate the X-ray induced damage via the DNA repair process is evaluated by means of experiments using the inhibitor 3-aminobenzamide (3AB-index).

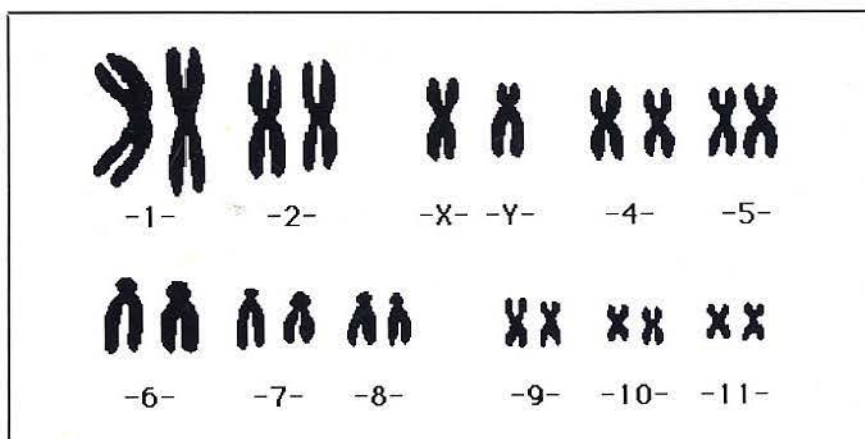
The repair response is a function of the individual variability (individual radiosensitivity). However, such a response range is comparable within the context of the human and canine species.

The applicability of the method proposed (micronucleus assay with 3AB index) is discussed, based on the multiplicity of the responses in permits and as a function of the overall agreement of the radiobiological behaviour found in the species studies (species-specific and comparative medicine).

Lo studio degli effetti radioindotti a livello genetico si propone come strumento di ricerca di indubbio interesse, oltre che in radiobiologia, in molti capitoli della medicina specie-specifica e comparata.

In tale ambito emerge in primo luogo la possibilità di stimare la dose assorbita attraverso un'indagine di tipo biologico, soprattutto in seguito ad un evento accidentale (dosimetria biologica). In secondo luogo la possibilità di valutare comparativamente il grado di suscettibilità di un singolo individuo nella risposta ad una irradiazione (radiosensibilità individuale).

Nel contesto del primo capitolo, il gruppo di ricerca INFN-ENEA ha messo a punto il test di micronuclei in cellule linfocitarie binucleate secondo il metodo di Fenech e Morley (1985) e le relative curve di taratura per esposizioni alle radiazioni



ionizzanti (r.i.) di basso LET (raggi X e gamma). In tal modo è possibile effettuare la «reverse prediction» ovvero la stima della dose attraverso la misura dell'effetto citogenetico indotto (Catena et al., 1991).

Nell'ambito del secondo capitolo, il suddetto gruppo di ricerca effettuò lo studio della radiosensibilità

Fig. 1
Piastra metafase (sinistra) e cariotipo (sopra) ottenuti da una cellula di hamster cinese (embrionale) della linea stabilizzata CLI/AF.

del soggetto (o della specie osservata) utilizzando linfociti del sangue circolante irraggiati «in vitro» con e senza 3-aminobenzamide



(3AB), inibitore questo specifico della poli(ADP-ribosio)polimerasi (Catena et al., 1992a). Tale enzima, che si rende particolarmente attivo dopo esposizione alle r.i., partecipa in misura notevole alla riparazione del danno radioindotto a carico del DNA.

Si ritiene che le risposte biologiche ottenute con il test dei micronuclei dopo trattamento combinato con radiazioni e con inibitore 3AB possano fornire utili indicazioni sulla capacità propria dei linfociti (e per estensione del soggetto donatore) di rispondere ad una irradiazione.

In questa prospettiva vengono presentati i risultati di alcune esperienze citogenetiche comparative condotte su linfociti canini ed umani. Questa indagine, che fa parte di un progetto che il gruppo di ricerca INFN-ENEA sta sviluppando con la collaborazione del Centro Studi del Corpo Veterinario Militare, pone l'accento su due considerazioni preliminari: a) il numero cromosomico del cane molto elevato rispetto a quello umano (rapporto 78/46 = 1,7); b) l'eventuale specie-specificità della risposta alla 3AB. Per un ulteriore confronto sono stati raccolti anche i dati ottenuti con analoghe metodiche sperimentali da una linea cellulare di hamster cinese (CL1/AF) stabilizzata in coltura «in vitro». Queste cellule presentano la caratteristica di possedere 22 cromosomi, cioè un corredo cromosomico pari alla metà

Posizione 1:
Cappa sterile a flusso per la manipolazione delle colture cellulari.

Posizione 2:
Impianto generatore di raggi X mod. Trimegagil (Gilardoni). In alto: consolle di comando con elettrometro di misura del flusso radiogeno; a destra: veduta parziale della postazione di irraggiamento all'interno della camera di piombo.

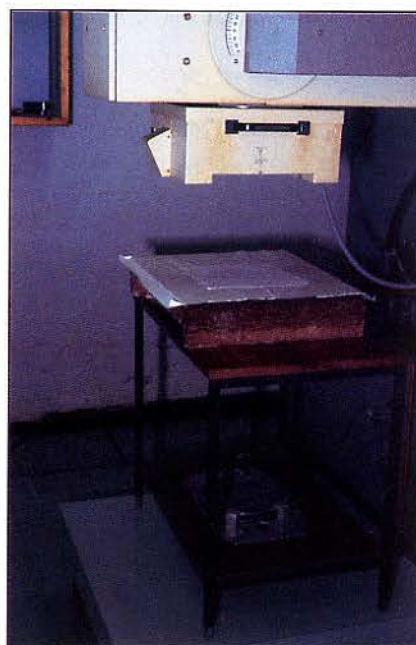
(meno uno) di quello umano.

Si aggiunga infine che i cani donatori, di razza pura e quindi dotati di parametri costituzionali tendenzialmente standardizzati, presentano caratteristiche tali da far ritenere possibile una buona correlazione tra radiosensibilità «in vitro» e dosi di radiazioni. Ciò potrebbe realizzarsi in funzione di una risposta radiobiologica verosimilmente più omogenea e presumibilmente esaltata dall'elevato numero cromosomico caratteristico della specie.

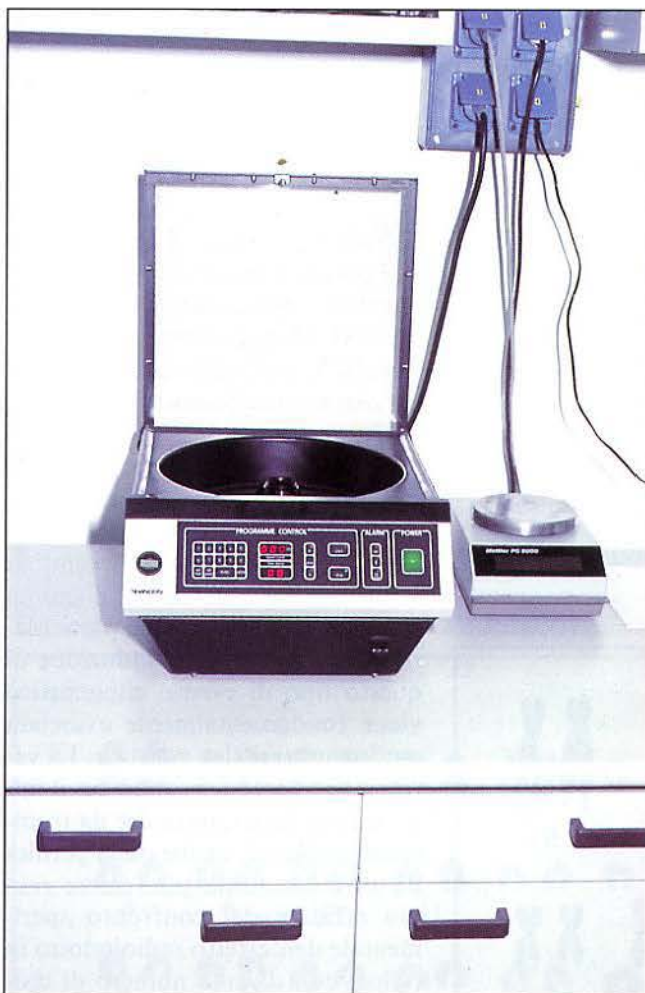
L'ipotesi considerata suggerisce quindi che questi comportamenti citogenetici possano consentire una migliore analisi ai fini biodosimetrici.

MATERIALI E METODI

La sub-linea cellulare CL1/AF, ottenuta per clonazione nel nostro laboratorio (Catena et al, 1990), deriva da una linea cellulare stabilizzata progenitrice di origine embrionale (sesso maschile) di hamster cinese (Kato, 1967) ed è mantenuta a 37° C in crescita esponenzia-



le in terreno F12 (con antibiotici) addizionato con il 10% di siero fetale bovino (Flow). Alla concentrazione di circa 10^4 cellule/cm² (fiasche da 25 cm²) si ottiene un tempo di duplicazione cellulare di circa 14 ore. Il sangue umano è prelevato dalla piega del gomito di individui sani, mentre quello canino (pastore tedesco) è prelevato dalla vena cefalica. I linfociti vengono isolati dalle altre particelle del sangue attraverso una centrifugazione su gradiente di sodio metrizolato/ficoll a p.s. 1.077 (LSM della Flow). Il trattamento con raggi X (impianto radiogeno mod. Trimegagil (Gilardoni) settato a 250 KV, 15mA e con filtro di Cu e Al) viene effettuato su linfociti appena isolati. Il campione,

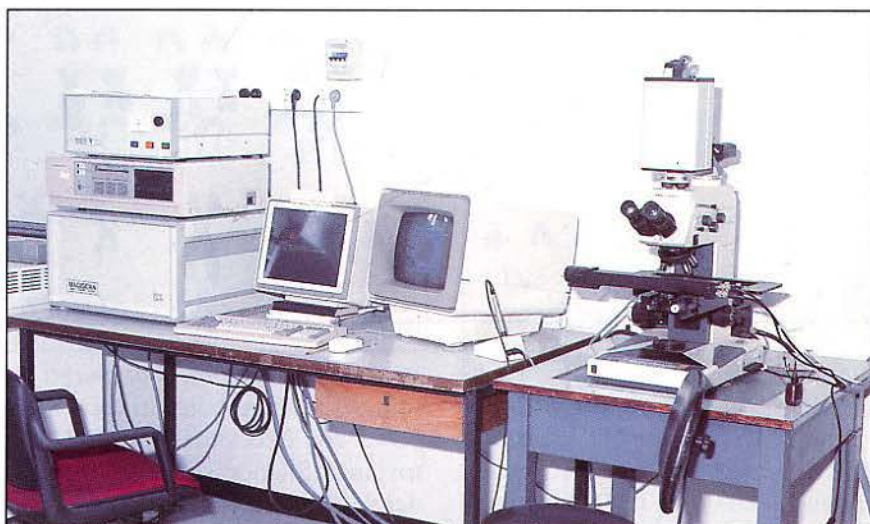


Posizione 3:
Citocentrifuga mod. Cytospin 2 (Shandon) per l'allestimento dei preparati citologici.

Posizione 4:
Microscopio ottico corredato di camera fotografica e telerilevamento in video.

Posizione 5:
Analizzatore di immagine mod. Magiscan (Joice-Loebl) per la composizione del cariotipo.

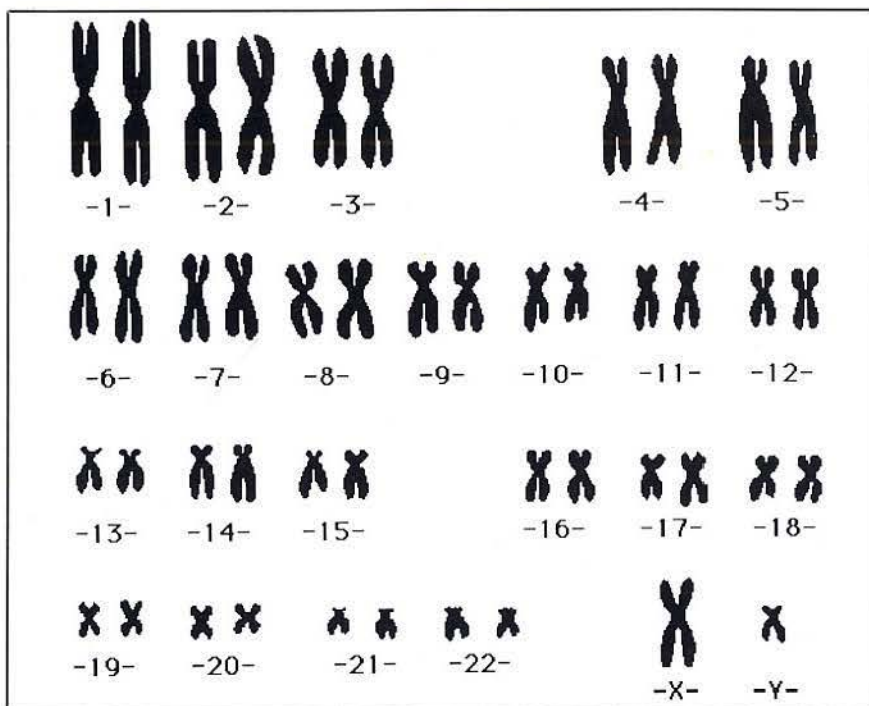
alla distanza di 50 cm dal fuoco, è sottoposto ad una dose rate di 1,16 Gy/min. Nei campioni trattati con l'inibitore, la 3-aminobenzamide (3AB) viene aggiunta 1 ora prima dell'irraggiamento alla concentrazione finale di 2mM. I linfociti sono mantenuti in coltura a 37° C e stimolati alla crescita utilizzando il terreno RPMI 1640 addizionato con antibiotici, 20% di siero fetale bovino (Flow) e 2% di fitoemoagglutinina (PHA) HA15 (Wellco-



me). La coltura ha una durata di 72 ore.

La preparazione dei cariotipi viene effettuata con l'arresto mitotico indotto dal Colcemid (Sigma) alla concentrazione di 0,2 µg/ml nell'ultime due ore di coltura. Al termine

del trattamento le cellule vengono lavate con soluzione di Hank's e sottoposte a trattamento ipotonico (KCl 0,075M) per 8 minuti. Le cellule vengono successivamente centrifugate e fissate con tre trattamenti sequenziali di alcool



metilico-acido acetico 3:1 (v/v). Le cellule fissate vengono distribuite su vetrino e colorate con Giemsa al 7%. Le metafasi sono osservate in microscopia ottica (1000x) ed il cariotipo viene composto con l'ausilio dell'analizzatore di immagine modello Magiscan (Joyce Loeb). Il test dei micronuclei è eseguito secondo il metodo di Fenech e Morley (1985). Il trattamento con $3\mu\text{g}/\text{ml}$ di citocalasina B (cytB) viene effettuato 24 ore prima dell'alle-

stimento dei vetrini. I preparati citologici vengono allestiti con l'ausilio di una citocentrifuga mod. Cytospin 2 (Shandon). La colorazione dei vetrini si effettua fissando preventivamente il preparato in alcool metilico assoluto per 10 minuti, per poi trattarlo con una soluzione di Giemsa al 5% (15 minuti). I vetrini vengono osservati a 1000x prendendo nota dei micronuclei (1,2,3 o più) presenti esclusivamente nelle singole cellule binucleate.

Fig. 2

Piastra metafasica (alto) e cariotipo (basso) ottenuti da linfociti umani in coltura *in vitro* e PHA-stimolati.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nelle figure 1, 2 e 3 sono mostrati le piastre metafasiche ed i cariotipi relativi alle cellule CL1/AF e ai linfociti umani e canini. Come è noto, il numero cromosomico risulta chiaramente diverso nelle tre specie osservate. Inoltre, sono evidenti difformità morfologiche soprattutto dei cromosomi canini rispetto a quelli delle altre due specie.

Nella produzione dei micronuclei il numero cromosomico e quindi dei centromeri assume un particolare rilievo in quanto l'induzione di questo tipo di evento citogenetico viene fondamentalmente associata a tale caratteristica genetica. La verifica dell'ipotesi secondo cui il micronucleo derivi, oltre che da frammenti acentrici, anche dalla perdita di un cromosoma può essere resa più efficace dal confronto sperimentale dell'effetto radioindotto in cellule con diverso numero di cromosomi.

La perdita del cromosoma può essere correlata alla sua incapacità di aderire alle fibre del fuso per danno al proprio centromero ovvero da una primitiva alterazione del fuso mitotico con successivo rilascio dello stesso cromosoma (Evans et al., 1959; Heddle, 1973; Yamamoto e Kikuchi, 1980).

In figura 4 sono mostrate alcune microfotografie con cellule binucleate ottenute dai tre diversi tipi cellulari, mentre in figura 5 sono mostrate microfotografie di linfociti umani e canini riguardanti cellule binucleate con micronucleo.

In tabella 1 sono riportate le frequenze relative delle cellule binucleate (CB) rispetto alle totali (CT) ottenute dopo un trattamento «in vitro» con raggi X singolo o combinato con 3AB di linfociti umani e canini. In tal modo viene posta uguale ad 1 la frequenza (CB/CT)

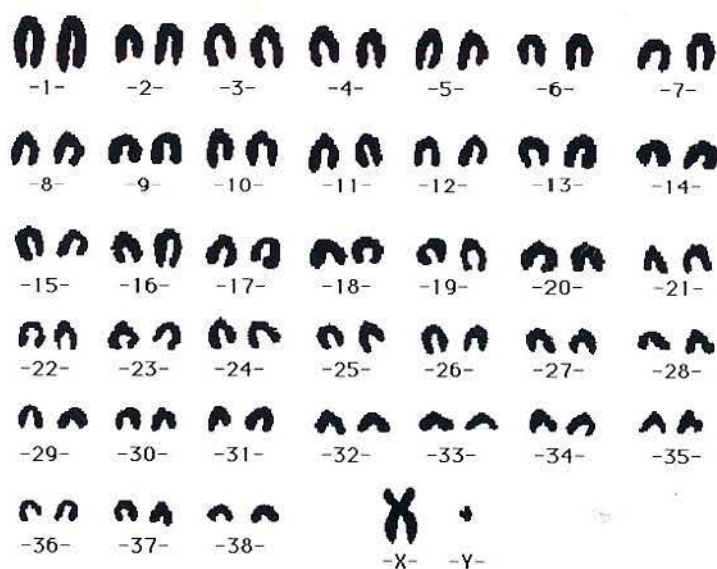
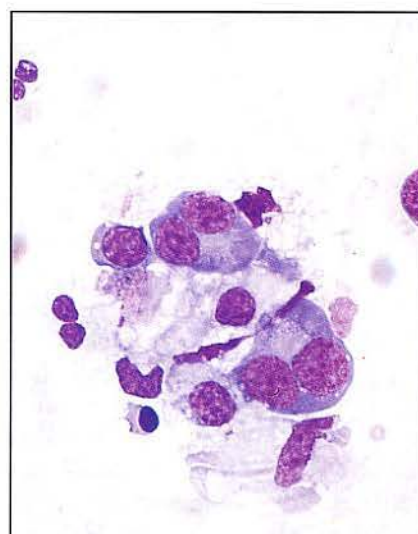
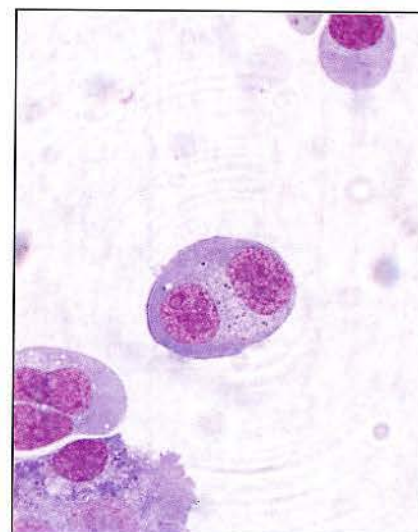
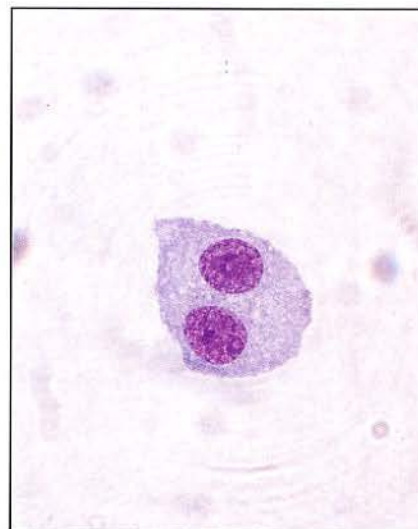
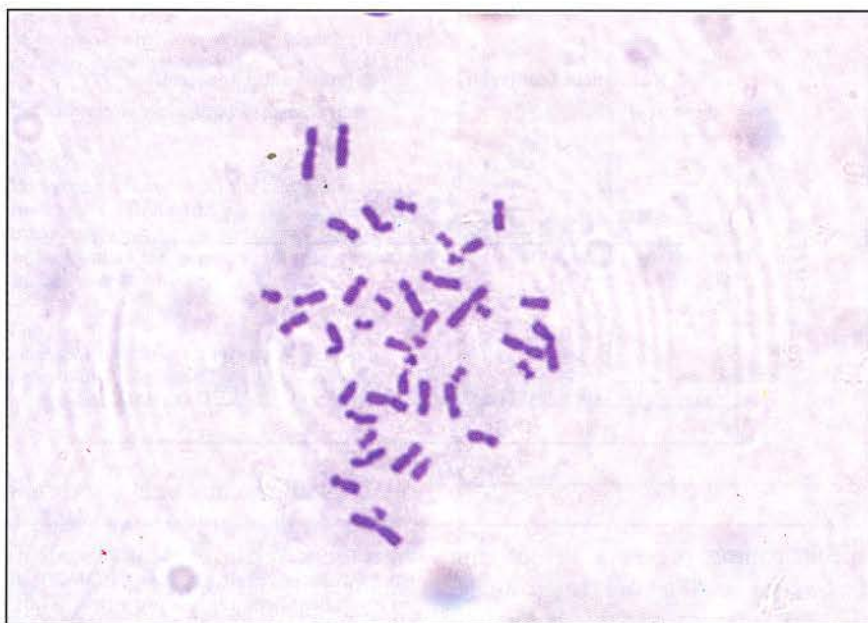


Fig. 3
Piastra metafasica (alto) e cariotipo (basso) ottenuti da linfociti canini in coltura *in vitro* e PHA-stimolati.

stimata nei controlli (a dose zero e senza 3AB). Nei trattamenti singoli (-3AB) si pone in evidenza, in ambedue le specie, come all'aumentare della dose (Gy) si verifici un decremento della frequenza relativa. Questo fenomeno presenta un andamento dose-dipendente e manifesta un'intensità maggiore nei linfociti canini rispetto a quelli umani.

La forte riduzione di cellule binucleate nei linfociti canini, più

evidente alla dose di 4 Gy, può essere ragionevolmente attribuita ad una maggiore radiosensibilità di queste cellule evidenziata dal loro ridotto avanzamento nel ciclo cellulare indotto dal trattamento con r.i. (ritardo mitotico).

Fig. 4
Microfotografie ottenute alla microscopia ottica di cellule binucleate dei tre tipi cellulari. In alto: cellule CL1/AF; al centro: linfociti umani; in basso: linfociti canini.

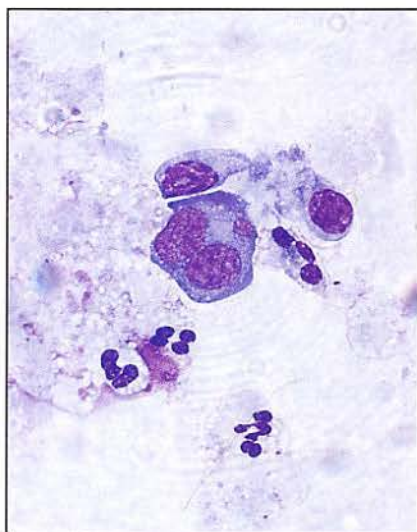
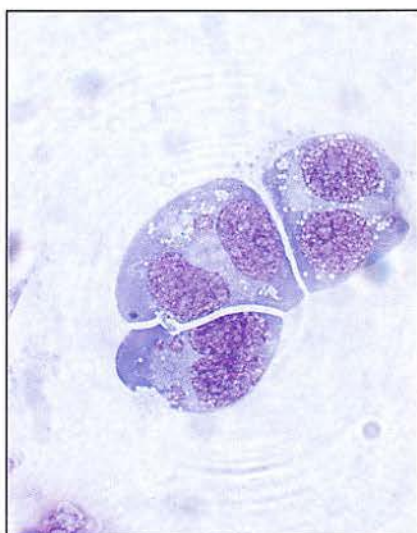
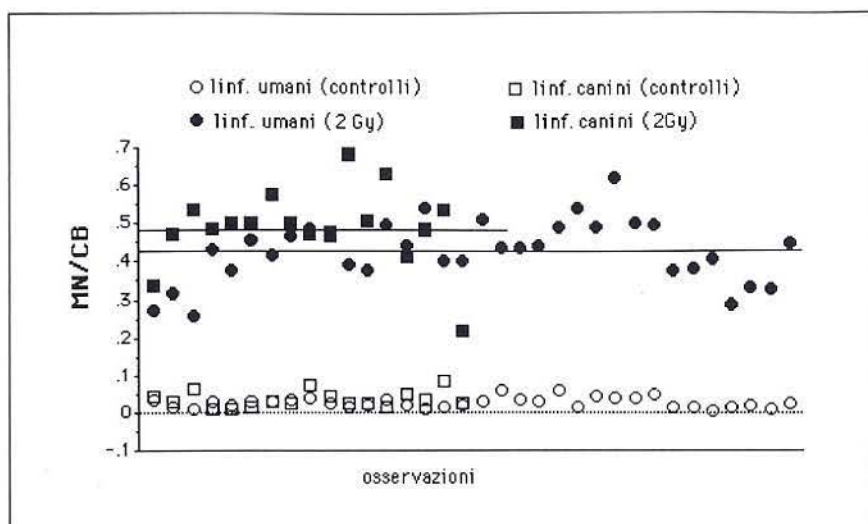


Fig. 5
Microfotografie ottenute alla microscopia ottica di cellule binucleate con micronucleo ottenute da linfociti umani (alto) e canini (basso).

Inoltre, si dimostra che il trattamento con 3AB, sia nei controlli che nei trattati con raggi X «in vitro», non modifica sostanzialmente l'avanzamento nel ciclo cellulare dopo PHA-stimolazione sia nei linfociti umani che in quelli canini.

In figura 6 sono riportate le frequenze dei micronuclei per cellula binucleata ottenute da linfociti umani (34 soggetti) e canini (17 soggetti), dopo trattamento «in vitro» con raggi X. Come si può notare, il livello di fondo (frequenza spontanea dei micronuclei) non differisce sostanzialmente nelle due specie. Dopo irraggiamento con 2 Gy la



specie canina presenta invece una frequenza media dei micronuclei (0,488) superiore a quella umana (0,409). La differenza tra le frequenze è significativa all'analisi statistica ($p = 0,0019$, t-test). Inoltre, è da rilevare che sia la variabilità individuale umana che quella canina presentano un'ampiezza di risposta (compresa tra valore minimo e massimo) del tutto sovrapponibile e quantificabile con un fattore 2.

In figura 7 è mostrato un istogramma relativo all'induzione media di micronuclei in cellule binucleate ottenute nelle tre diverse specie cellulari. È chiaramente visibile come l'effetto biologico sia direttamente correlabile, con buona approssimazione, al numero dei cromosomi presenti nella cellula fino alla dose di 2 Gy.

Per dosi superiori (4 Gy nelle nostre condizioni sperimentali) tale correlazione viene a mancare tra i linfociti umani e quelli canini, probabilmente a causa della forte inibizione dell'avanzamento nel ciclo cellulare subita da questi ultimi alle alte dosi (tabella 1).

Questo comportamento radiobiologico dei linfociti canini rispetto a quelli umani può indurre, alle dosi elevate, una notevole sottostima dell'effetto citogenetico (falsa negatività).

Agli stessi livelli di dose è confermata invece la correlazione diretta

Fig. 6
Micronuclei in cellule binucleate (BN/CB) dopo trattamento con raggi X «in vitro» di linfociti umani e canini (rispettivamente 34 e 17 individui). Linee parallele all'ascissa: media (0,488) dei valori ottenuti su linfociti canini (linea corta); media (0,409) dei valori ottenuti su linfociti umani (linea lunga).

tra produzione di micronuclei e numero cromosomico intercorrente tra la linea cellulare CL1/AF di hamster cinese e i linfociti umani.

La sola misura della frequenza dei micronuclei ad una determinata dose è parzialmente indicativa del grado di sensibilità del soggetto. Infatti, nulla si conosce sull'evoluzione che il danno iniziale ha subito a motivo degli interventi riparativi del sistema enzimatico cellulare. A tale riguardo sono state approfondite, attraverso un'accurata revisione bibliografica, le conoscenze scientifiche sulla poli(ADP-ribosio)polimerasi per chiarire meglio l'importanza di questo enzima nell'ambito dei meccanismi che regolano la risposta cellulare all'insulto delle r.i. (Clever e Morgan, 1991) (vedi scheda e figura 8 e 9)

Un aspetto interessante riguarda il ruolo che l'enzima poli(ADP-ribosio)polimerasi svolge nella riparazione del danno al DNA e sulla conseguente formazione del micronucleo. L'enzima partecipa attivamente alla riparazione delle rotture prodotte dalle r.i. sulla catena del DNA (Cleaver e Morgan, 1991).

Fig. 7

Micronuclei (MN) in cellule binucleate (CB) dopo trattamento con raggi X. Colonne chiare: CL1/AF; colonne puntinate: linfociti umani; colonne piene: linfociti canini.

Tab. 1

Frequenze relative di cellule binucleate (CB) rispetto alle cellule totali (CT) ottenute dopo trattamento «in vitro» con raggi X con e senza 3AB. I valori tra parentesi sono le deviazioni standard delle misure.

Fig. 8

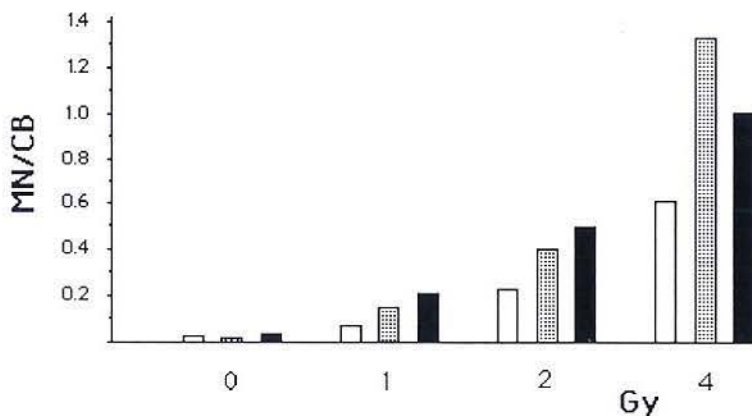
Schema esplicativo di alcune fasi biochimiche riguardanti l'enzima poli(ADP-ribosio)polimerasi.

Pertanto, una sua inibizione dovrebbe essere in grado di potenziare l'effetto radioindotto incrementando la formazione dei micronuclei. Si pongono in tal modo due quesiti: a) il primo sulla generalizzazione del fenomeno biologico a specie diverse; b) il secondo sulla consistenza di questa ipotesi sperimentale in termini qualitativi e quantitativi.

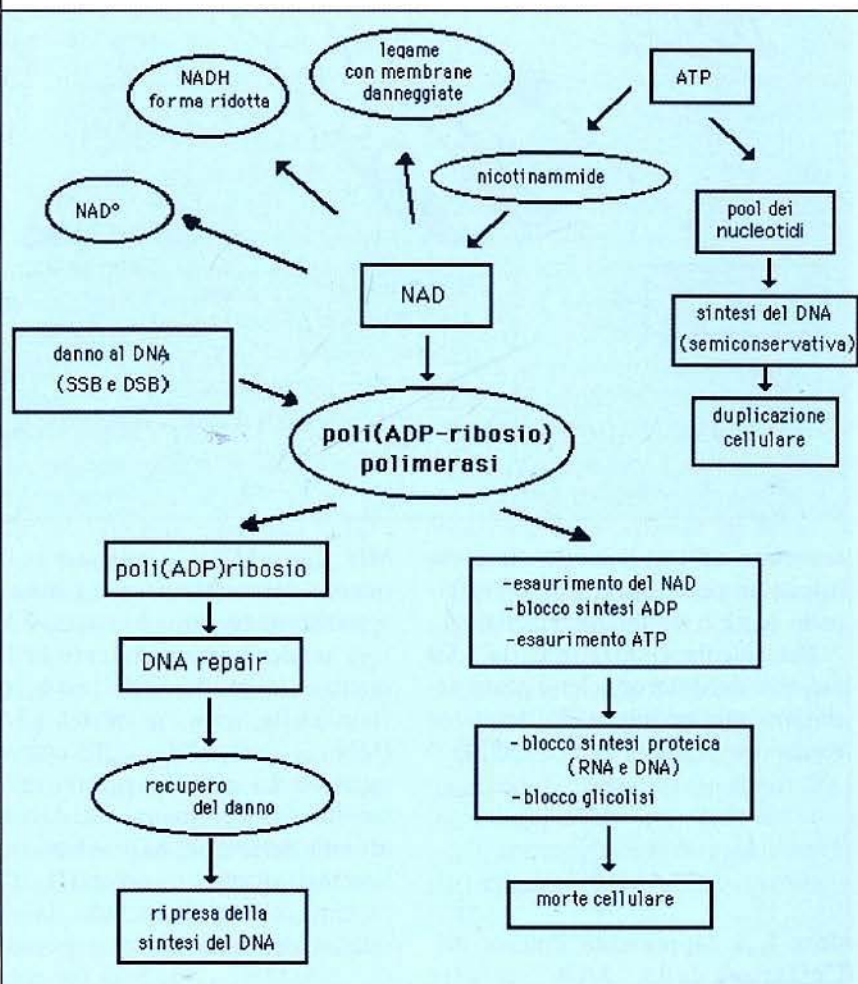
Nella figura 10 è mostrata la frequenza dei micronuclei (MN/CB) in presenza della 3AB dopo trattamento con r.i. «in vitro» dei linfociti umani e canini. Come si può facilmente notare, le nostre esperienze mettono in evidenza che esiste, in entrambe le specie, un potenziamento dell'effetto radioindotto da parte dell'inibitore a livello di risposta individuale. Infatti, dall'analisi statistica eseguita con il t-test appaiato nelle due condizioni sperimentali (con e senza inibitore), risulta che la probabilità di omogeneità dei dati ottenuti nei linfociti umani e canini è inferiore a 0,01, a conferma della significatività del potenziamento indotto dall'inibitore.

Nella figura 11 è mostrato un istogramma che raccoglie per comparazione le medie dei micronuclei in cellule binucleate osservate dopo una dose di 2 Gy di raggi X somministrata da sola e in combinazione con la 3AB nelle tre specie cellulari.

È chiaramente visibile come la 3AB da sola non sia in grado di indurre una significativa variazione dei valori basali dei micronuclei; se



Dose (Gy)	Linfociti PHA-stimolati			
	umani		canini	
	-3AB	+3AB	-3AB	+3AB
0	1.00	0.89 (±0.10)	1.00	0.95 (±0.12)
1	0.81 (±0.08)	0.70 (±0.18)	0.84 (±0.20)	-
2	0.77 (±0.12)	0.72 (±0.16)	0.41 (±0.16)	0.32 (±0.12)
4	0.67 (±0.05)	-	0.23 (±0.11)	0.15 (±0.05)



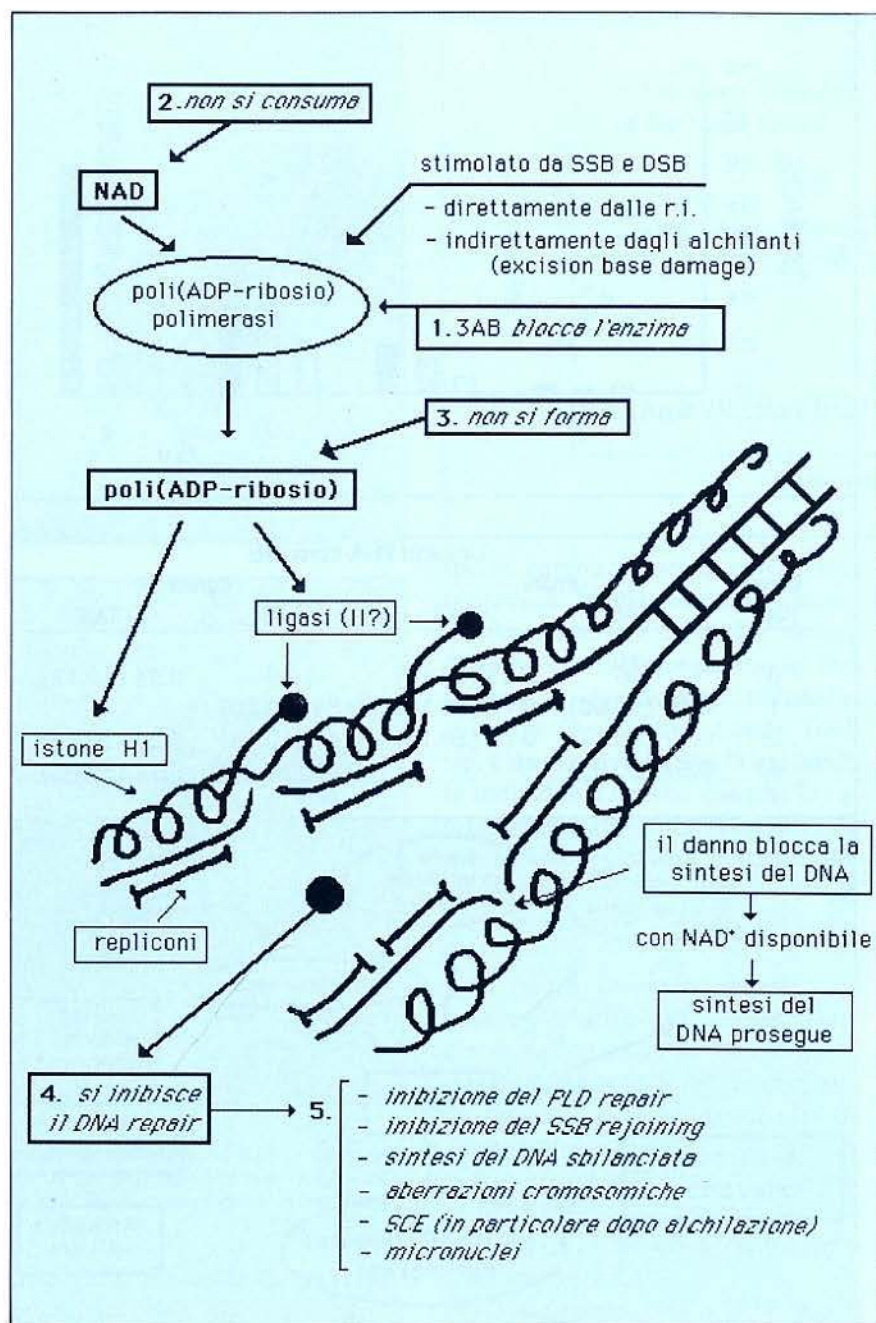


Fig. 9

Azione dell'enzima poli(ADP-ribosio) polimerasi sulla riparazione del DNA. Le azioni indotte dall'inibitore (3AB) sono numerate progressivamente e riportate in corsivo. NAD: nicotinadenindinucleotide; SSB e DSB: singole e doppie rotture del DNA; 3AB: 3aminobenzamide; PLD: danno potenzialmente letale; SCE: scambio fra cromatidi fratelli.

te prevalente su quella senza 3AB (MN_{-3AB}), con ciò esprimendo una maggiore resistenza (riparazione del DNA associata ad una elevata sintesi di poli(ADP-ribosio)polimerasi?). Il calcolo dell'errore standard (ES) di I_{3AB} , ottenuto con la regola della radice dei quadrati, non mostrato in questo lavoro, consentirà inoltre di valutare più puntualmente il grado di radiosens-

LA POLI(ADP-RIBOSIO) POLIMERASI

L'enzima poli(ADP-ribosio)polimerasi sintetizza a partire dalle molecole di nicotinamide-adenindinucleotide (NAD) il poli(ADP-ribosio) che è un polimero di natura polipeptidica (contiene fino ad 80 unità aminoacidiche) con catena talvolta ramificata.

L'enzima, che fa parte delle ADP-ribosiltransferasi, è in grado di rompere il legame azoto-glicosidico tra la nicotinamide ed il ribosio della molecola del NAD, per trasferire il radicale ADP-ribosio al polimero in formazione. L'attività endogena dell'enzima, in cellule eucariotiche, è principalmente localizzata nel nucleo. Infatti, l'enzima non costituisce un'entità libera, ma è legato alla proteina istonica H1 del DNA. In tali condizioni il poli(ADP-ribosio) neoformato è in grado di aprire e distendere la struttura dei nucleosomi, agendo sulle proteine cromosomali e modificando il grado di superavvolgimento del DNA. Questa operazione è necessaria per creare le condizioni favorevoli ad un'attiva ed efficace riparazione del DNA (Purnell et al., 1980). Esisto-

associata all'irradiazione dimostra invece un potenziamento dell'effetto in tutte e tre le specie cellulari.

Per calcolare l'effetto della 3AB nel test dei micronuclei è stata recentemente proposta la seguente equazione (Catena et al., 1992a):

$$I_{3AB} = 1 - \frac{MN_{-3AB}}{MN_{+3AB}}$$

dove I_{3AB} rappresenta l'indice dell'effetto della 3AB, mentre

MN_{+3AB} e MN_{-3AB} indicano la frequenza dei micronuclei ottenuta rispettivamente con e senza 3AB. I_{3AB} tenderà a zero quando la frequenza dei micronuclei sarà confrontabile con e senza 3AB ($MN_{+3AB} \approx MN_{-3AB}$), con ciò esprimendo una maggiore radiosensibilità (riparazione del DNA o attività della poli(ADP-ribosio)polimerasi ridotte o assenti?). I_{3AB} tenderà all'unità quando la frequenza dei micronuclei in presenza di 3AB (MN_{+3AB}). Sarà fortemen-

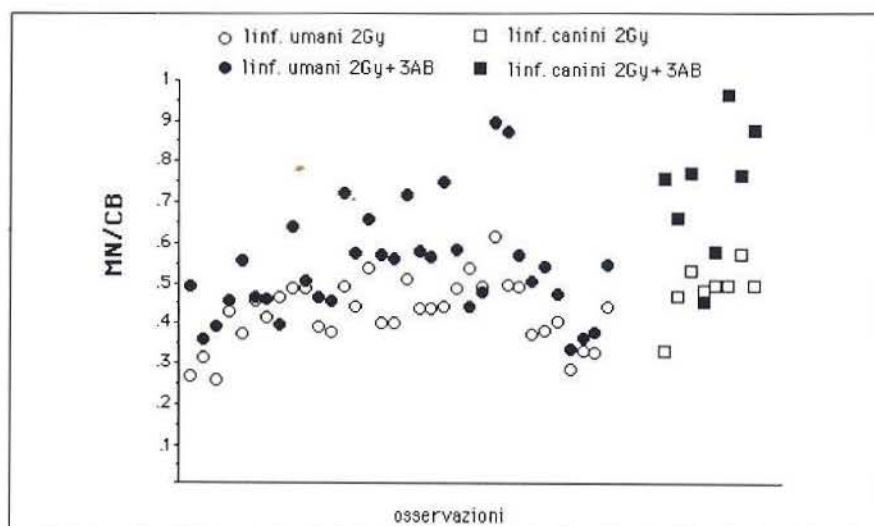


Fig. 10
Micronuclei in cellule binucleate (MN/CB) dopo trattamento «in vitro» con raggi X, con e senza 3AB, di linfociti umani e canini (risposte individuali).

no anche indicazioni sul ruolo determinante che il polimero esercita sull'attività della topoisomerasi e della ligasi II (George et al., 1986). Una volta esaurita la sua funzione, il polimero viene degradato dall'enzima poli(ADP-ribosio)glicoidrolasi, con un turnover molto elevato, in modo da permettere la successiva ricostruzione «ad integrum» della struttura del DNA (Berger, 1985). Ulteriori prove sul coinvolgimento dell'enzima poli(ADP-ribosio)polimerasi nella riparazione del DNA sono state ottenute, in studi su nuclei isolati o in cellule con membrana resa permeabile, attraverso misure di incorporazione di NAD marcato (Szeigert et al., 1990). È stato inoltre dimostrato che il trattamento con agenti clastogeni, comprese le r.i., determina un potenziamento della stimolazione della poli(ADP-ribosio)polimerasi. (Lunec, 1984).

Poiché l'attività di questo enzima viene stimolata dalla presenza di rotture del singolo (SSB) o del doppio filamento (DSB) del DNA, viene così confermata la sua importanza nella induzione dei fenomeni riparativi (Riklis, 1990). Merita anche precisare che le rotture a doppio

filamento sembrano almeno 10 volte più efficienti nell'attivare l'enzima rispetto alle rotture a singolo filamento (Benjamin e Gill, 1980a; Benjamin e Gill, 1980b). Inoltre, in condizioni «di crisi» per danno indotto dalle r.i., l'enzima può intervenire nel processo di «excision repair» come attivatore della DNA ligasi II (Thraves et al., 1985).

La maggior parte dei lavori sperimentali indicano dunque che le lesioni del DNA sono un elemento capace di incrementare l'attività della poli(ADP-ribosio)polimerasi. L'attivazione si esprime con una notevole riduzione, a livello cellulare, della concentrazione del NAD e di conseguenza con il consumo di ATP che non può essere più utilizzato attraverso la sua seconda via (pool di nucleotidi). L'effetto finale è il blocco della sintesi del DNA. Nell'intervallo tra l'induzione del danno e l'eventuale ripresa della sintesi del DNA si verifica un ritardo della duplicazione (DNA synthesis delay), durante il quale avviene la riparazione resa possibile proprio dal polimero poli(ADP-ribosio).

Tra gli inibitori della poli(ADP-ribosio)polimerasi si possono annoverare gli analoghi delle pirimidine

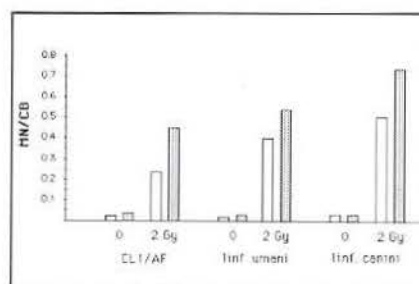


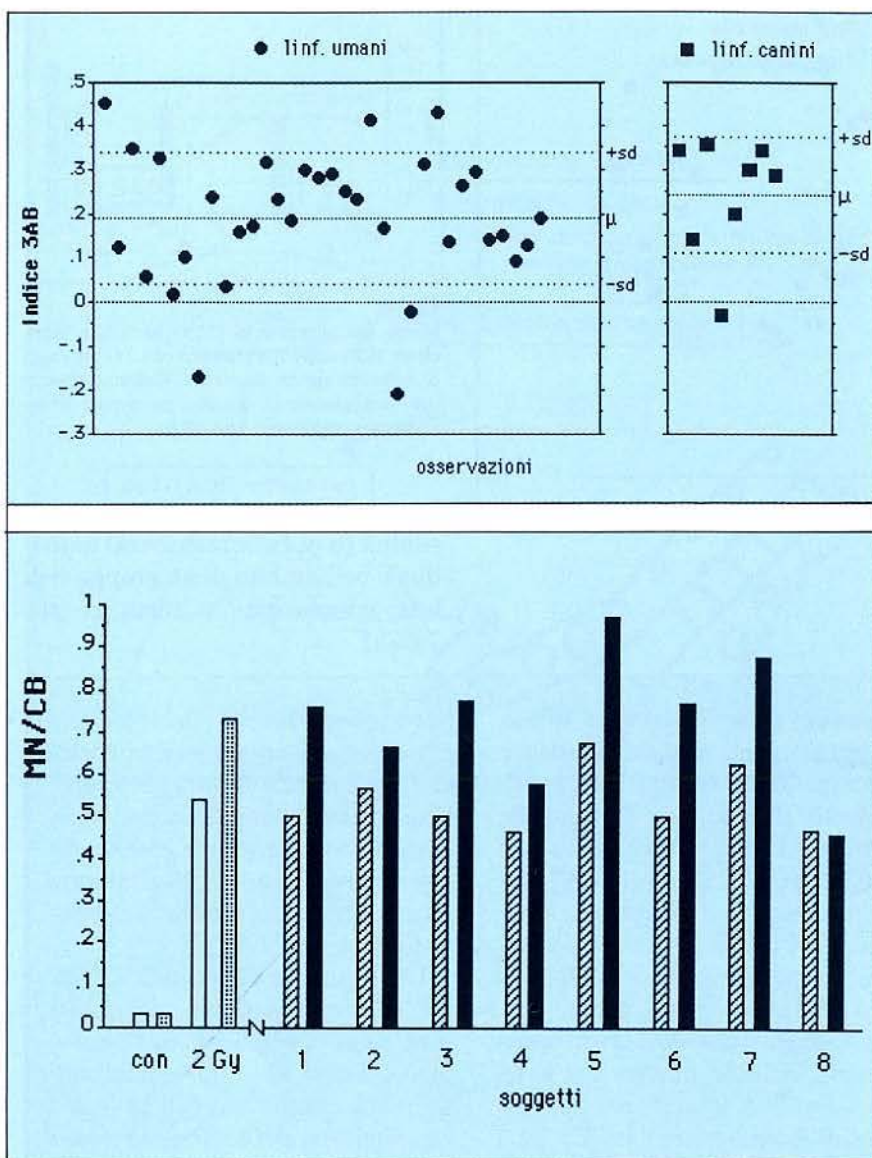
Fig. 11
Medie dei micronuclei (MN) in cellule binucleate (CB) dopo trattamento con 2 Gy di raggi X nelle tre specie osservate. Colonne chiare: solo irraggiamento; colonne puntinate: irraggiamento combinato con 3AB.

sibilità (o di radioresistenza) individuale nell'ambito di un gruppo o di una popolazione (Catena et al., 1992a).

(nicotinamide), delle purine (cafeina) e della benzamide (aminoderivati). In base ai risultati sperimentali, gli analoghi delle benzamide sembrano avere la migliore capacità inibitoria e tra questi la 3AB risulta essere la meno tossica a livello cellulare (Sims et al., 1982).

Un eventuale blocco dell'attività dell'enzima al momento del danno avrà come conseguenza la fissazione del danno stesso dovuta ad uno squilibrio biochimico dell'apparato riparativo del DNA. Il danno infatti non viene rimosso (probabilmente anche per inibizione della ligasi) e, poiché il livello del NAD intracellulare resta inalterato, la sintesi semi-conservativa del DNA prosegue non risentendo della presenza del danno indotto.

È stato osservato che la radiosensibilità delle cellule eucariotiche aumenta, in termini di letalità cellulare, in seguito alla inibizione della poli(ADP-ribosio)polimerasi (Kol et al., 1983). Tale aumento compare sia in cellule in crescita esponenziale (fibroblasti umani in coltura «in vitro»), che in cellule in fase stazionaria (linfociti umani in Go) (Brown, 1984).



Nella figura 12 è riportato il valore dell'indice 3AB ottenuto in linfociti umani e canini a livello individuale. Come si può notare, in entrambe le specie le medie sono statisticamente simili ($p = 0,37$, t-test) ed il loro campo di variabilità, espresso come deviazione standard ($+/-sd$), si trova nettamente al di sopra dello zero. Ciò dimostra che l'inibitore è in grado di potenziare l'induzione dei micronuclei e che il suo effetto è quantitativamente identico nelle due specie. Inoltre, l'ampiezza della variabilità individuale riscontrata a livello umano è dello stesso ordine di quella rilevata a livello canino. L'indice 3AB, ottenuto come media dei soggetti os-

servati, acquista per le tre specie valori di 0,48 (CL1/AF dell'hamster cinese), 0,25 (linfociti umani) e 0,33 (linfociti canini).

Nell'istogramma della figura 13 sono mostrati, per i soli linfociti canini, i valori medi ottenuti con il test dei micronuclei confrontati con i valori ottenuti individualmente (8 soggetti). È osservabile nei soggetti canini un'ampia variabilità della risposta analogamente a quanto rilevato negli individui umani (Catena et al., 1992b).

Il test dei micronuclei, soprattutto se integrato dal calcolo dell' I_{3AB} , può essere impiegato nello studio di molteplici condizioni in cui l'effetto citogenetico è espres-

Fig. 12

Indice 3AB ottenuto dopo trattamento con 2 Gy di raggi X di linfociti umani e canini. μ = medie relative alle due specie; sd = deviazione standard della media.

Fig. 13

Micronuclei (MN) in cellule binucleate (CB) di linfociti canini. Colonne chiare e puntinate: valori medi dei controlli e dei trattati con 2 Gy di raggi X senza e con 3AB. Colonne a righe e colonne scure: livelli di risposta individuale dopo trattamento con raggi X senza e con 3AB (8 soggetti).

sione diretta o indiretta di un danno potenziale o in atto.

Condizioni di particolare interesse per uno studio citogenetico effettuato con le modalità sopra descritte sono:

- 1) dosimetria biologica in caso di sovraesposizione accidentale alle radiazioni ionizzanti (Huber et al., 1983; Catena et al., 1986; Catena e Mattoni, 1987; Righi, 1987);
- 2) prescreening della radiosensibilità di individui esposti al rischio da radiazioni ionizzanti (curva dose-effetto personalizzata per la dosimetria citogenetica?) (Huber et al., 1983; Huber et al., 1989; Weeks et al., 1991; Catena et al., 1992b);
- 3) identificazione di gruppi della popolazione con maggiore instabilità genomica (fragilità cromosomica) e quindi potenzialmente a maggior rischio di patologie oncologiche e di anomalie genetiche (Gentner et al., 1988; Rabinovitch et al., 1988; UNSCEAR, 1988; Huber et al., 1989; Weeks et al., 1991);
- 4) studio delle anomalie citogenetiche nelle patologie oncologiche in atto (Schantz et al., 1990);
- 5) studio della radiosensibilità dei tumori da sottoporre a radioterapia (Shibamoto et al., 1991);
- 6) studio della radiosensibilità dei pazienti da sottoporre a radioterapia (Gantenberg et al., 1991; Weeks et al., 1991);
- 7) effetti genotossici indotti da

agenti fisici diversi dalle r.i., da agenti chimici (farmaci) e da agenti biologici (virus) (UNSCLEAR, 1988; Scanni et al., 1989; Tomanin et al., 1992).

Il test dei micronuclei con 3AB, per le sue caratteristiche, è tale da risultare idoneo anche per applicazioni in ambiti diversi dalla medicina umana. Si intravede, infatti, la possibilità di una utilizzazione del test «in campo» su animali da allevamento come indicatore biodosimetrico ambientale. In tal caso è possibile contare sia su alcune vantaggiose caratteristiche specie-specifiche (p.es.: elevato numero cromosomico), sia sulle condizioni costituzionali tendenzialmente standardizzate ottenibili dalla selezione zootecnica. Allo scopo dovrebbe essere ovviamente costruita una curva di calibrazione dose-effetto specie-specifica.

Inoltre, il test dei micronuclei con 3AB potrebbe proporsi, nelle stesse condizioni di osservazione, come indicatore in studi epidemiologici e di nocività ambientale riguardanti fattori genotossici. Sul piano della selezione zootecnica potrebbe risultare interessante l'utilizzazione del metodo come indicatore di «salute» nelle «linee familiari» ad elevata consanguineità (correlazione tra MN/CB e coefficiente di inincrocio), soprattutto ai fini di una valutazione della predisposizione ad ammalare di tumore o a produrre patologie ereditarie. Si aggiunga infine che una accertata fragilità cromosomica (instabilità genomica) in una determinata «linea di sangue» potrebbe far ipotizzare una minore stabilità dei caratteri ereditari che si vorrebbero invece consolidare con la selezione.

A conclusione si può affermare che il metodo proposto trova la sua giustificazione applicativa nella molteplicità delle risposte che esso stesso consente e nella congruità globale dei comportamenti radiobiologici rilevati nelle specie esplorate.

BIBLIOGRAFIA

BENJAMIN R. C., GILL D.M.: ADP-ribosylation in mammalian cell ghosts. Dependence of poly(ADP-ribose) synthesis on strand breakage in DNA. *J. Biol. Chem.* 255, 10493-10501, 1980a.

BENJAMIN R.C., GILL D.M.: Poly(ADP-ribose) synthesis in vitro programmed by damaged DNA. A comparison of DNA molecules containing different types of strand breaks, *J. Biol. Chem.* 255, 10502-10508, 1980b.

BERGER N.A.: Poly (ADP-ribose) in the cellular response to DNA damage. *Radiation Research* 101, 4-15, 1985.

BROWN D. M., EVANS J. W., BROWN J. M.: The influence of inhibitors of Poly(ADP-ribose)polymerase on X-Ray-induced potentially lethal damage repair. *Br. J. Cancer* 27-31, 1984.

CATENA C., MATTONI A., PACCHIEROTTI F.: Micronucleus test in cytokinesis blocked (CB) human lymphocytes as a new approach for biological dosimetry. 20th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology — PISA, 1986.

CATENA C., MATTONI A.: Misura dei micronuclei in linfociti umani con blocco della citochinesi: un nuovo approccio nel campo della dosimetria biologica. Rapporto tecnico ENEA RT/PAS/87/12, 1987.

CATENA C., CONTI D.: Micronuclei indotti da radiazioni ultraviolette o da raggi X in cellule di mammifero in vitro. *Boll. Soc. It. Biol. Sper.* 66, 413-418, 1990.

CATENA C., CONTI D., DEL NERO A., RIGHI E.: La dosimetria citogenetica (dicentrici e micronuclei) delle radiazioni ionizzanti: elaborazione metodologica e analisi di fattibilità. Lettura presentata al 5° Corso Avanzato di Radioprotezione Medica organizzato dell'Università degli Studi di Padova, Bressanone, 23-27 Settembre 1991.

CATENA C., CONTI D., DEL NERO A., RIGHI E.: Interindividual differences in radiation response shown by an «in vitro» micronucleus assay: effects of 3-aminobenzamide on X-ray

treatment. *Int. J. Radiat. Biol.* 62, 687-694, 1992a.

CATENA C., CONTI D., VILLANI P., NASTASI R., RIGHI E.: Radiosensibilità individuale. *Riv. Med. Lav. Ig. Ind.*, Anno XVI, 29-46, Luglio-Dicembre, 1992b.

CLEAVER J.E., MORGAN W.F.: Poly(ADP-ribose)polymerase: a perplexing participant in cellular responses to DNA breakage. *Mutat. Res.* 257, 1-18, 1991.

EVANS H.J., NEARY G.J., WILLIAMSON F.S.: The relative biological effectiveness of single doses of fast neutrons and γ -rays on vicia faba roots and the effect of oxygen, Part II. Chromosome damage: The production of micronuclei. *Int. J. Rad. Biol.* 1, 216-219, 1959.



(*) Il Dott. Carlo Catena nato a Roma l'8/4/1943 si è laureato in Scienze Biologiche presso l'Università «La Sapienza» di Roma nel 1974 con il massimo della votazione. Svolge presso l'ENEA (CRE, Casaccia) attività di ricerca nell'ambito della radiobiologia e della radiogenetica, anche in collaborazione con Istituti Universitari e con altri Enti di Ricerca. Associato come ricercatore all'INFN dal 1991 dirige, per conto dell'ENEA, il programma di ricerca INFN-ENEA sulla dosimetria citogenetica e sulla radiosensibilità individuale.

FENECH M. MORLEY A.A.: Measurements of micronuclei in lymphocytes. *Mutat. Res.* 147, 29-36, 1985.

GANTENBERG H.W., WUTTKE K., STREFFER C., MULLER W.U.: Micronuclei in human lymphocytes irradiated in vitro or in vivo. *Radiation Research* 128, 276-281, 1991.

GENTNER N.E., MORRISON D.P., MYERS D.K.: Impact on radiogenic cancer risk of person exhibiting abnormal sensitivity to ionizing radiation. *Health Physics* 55, 415-425, 1988.

GEORGE A. M., CRAMP W. A., BRENNAN S. LEWIS P. D., WHISH W. J. D.: The effects of benzamide ADP-ribosyl transferase inhibitors on cell survival and DNA strand-break repair in irradiated mammalian cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 49, 783-798, 1986.

HEDDLE J.A.: A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutat. Res.* 18, 187-190, 1973.

HUBER R., STRENG. S., BAUCHINGER M.: The suitability of the human lymphocytes micronucleus assay system for biological dosimetry. *Mut. Res.* 111, 185-193, 1983.

HUBER R., BRASELMANN H., BAUCHINGER M.: Screening for inter-individual differences in radiosensitivity by means of the micronucleus assay in human lymphocytes. *Radiat. Environ. Biophys.* 28, 113-120, 1989.

KATO R.: Localization of «spontaneous» and rous sarcoma virus-induced breakage in specific regions of the chromosomes of the Chinese hamster. *Hereditas* 58, 221-246, 1967.

KOL R.: BEN HUR E., Radiation protection of stimulated human lymphocytes by nicotinamide. *Radiat. Environ. Biophys.* 22, 133-140, 1983.

LUNEC J.: Introductory review: involvement of ADP-ribosylation in cellular recovery from some forms of DNA damage. *Br. J. Cancer* 49, suppl. VI, 13-18, 1984.

PURNELL M.R., WHISH W.J.D.: Novel Inhibitors of poly(ADP-ribose)synthetase. *Biochem. J.* 185, 775-777, 1980.

RABINOVITCH P.S., REID B.J., HAGGITT R.C.: NORWOOD T.H., RUBIN C.E.: Progression to cancer in Barrett's esophagus in associated with genomic instability. *Laboratory Investigation*, 60, 65-71, 1988.

RIGHI E.: Caratteristiche metodologiche ed attuali possibilità di impiego della dosimetria citogenetica. *Riv. Med. Lav. Ig. Ind.*, Anno XI, 172-211 Gennaio-Dicembre 1987.

RIKLIS E., KOL R. AND MARKO R.: Trends and developments in radio-



(**) La Dott.ssa Daniela Conti, nata a Monza (MI) il 27/05/1961, si è laureata, con lode, in Scienze Biologiche presso l'Università «La Sapienza» di Roma nel 1988. Negli anni 1989-1990 ha svolto studi di biologia cellulare in ambito tossicologico-ambientale con un contratto ENEA. Ha proseguito la sua collaborazione con il Laboratorio di Biologia Cellulare dell'ENEA per studi di radioprotezione umana ed attualmente svolge questa attività di ricerca in un programma congiunto INFN-ENEA sulla dosimetria citogenetica e sulla radiosensibilità individuale.



(***) La Dott.ssa Paola Villani, nata a Roma il 12/12/1959, si è laureata in Scienze Biologiche presso l'Università «La Sapienza» di Roma nel 1983. Attualmente svolge la sua attività presso il Centro ENEA Casaccia, dove è stata assunta nel 1989. Ha partecipato a lavori sulla crioconservazione di linee germinali di specie ittiche ed ha effettuato studi di citomorfologia tramite analisi computerizzata dell'immagine.



(****) La Dott.ssa Rosanna Nastasi nata a Nettuno (Rm) il 13/1/1961, si è laureata con lode in Scienze Biologiche nel 1992 presso l'Università «La Sapienza» di Roma, discutendo la tesi «Misura del danno genotossico indotto da agenti nocivi di rilevanza ambientale in linfociti umani», svolta presso il Laboratorio di Biologia Cellulare dell'ENEA. Attualmente, in seno al medesimo Laboratorio, partecipa ad un programma congiunto INFN-ENEA sulla dosimetria citogenetica e sulla radiosensibilità individuale.

protection: the effect of nicotinamide on DNA repair. *Int. J. Radiat. Biol.* 57, 699-708, 1990.

SCANNI A., FARINA G., PERRO-NE S., TOMIOTTI M.: Protezione professionale in Oncologia medica., *Argomenti di Oncologia*, 10, 385-392, 1989.

SCHANTZ S.P., HSU T.C., AIN-SLIE N., MOSER R.P.: Fragilità cromosomica e neoplasie maligne del primo tratto respiratorio e digestivo tra i giovani adulti. *JAMA ed.it.*, 2, 548-552, 1990.

SHIBAMOTO Y., STREFFER C., FUHRMANN C., BUDACH V.: Tumor radiosensitivity prediction by the cytokinesis-block micronucleus assay. *Radiation Research*, 128, 293-300, 1991.

SIMS J. L., BERGER S. J., BERGER N. A.: Poly(ADP-ribose) poly-

merase inhibitors preserve nicotinamide adenine dinucleotide and adenosine 5'-triphosphate pools in DNA-damaged cells: mechanism of stimulation of unscheduled DNA synthesis. *Biochemistry*, 22: 5188-5194, 1983.

SWEIGERT S.E., MARSTON J.M., DETHLEFSEN L.A.: Poly(ADP-ribose) metabolism in proliferating versus quiescent cells and its relationship to their radiation responses. *Int. J. Radiat. Biol.* 58, 111-123, 1990.

THRAVES P., MOSSMAN K.L., BRENNAN T., DRITCHILO A.: Radiosensitization of human fibroblast by 3-aminobenzamide: an inhibitor of poly(ADP-ribosylation). *Radiation Research* 104, 119-127, 1985.

TOMANIN R., BALLARIN C., BARTOLUCCI G.B., DE ROSA E., SESSA G., IANNINI G., CUPIRAGGI A.R. AND SARTO F.: Chromoso-

me aberrations and micronuclei in lymphocytes of workers exposed to low and medium levels of styrene. *Int. Arch. Occup. Environ Health* 64, 209-215, 1992.

UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION (UNSCEAR): Sources, effects and risks of ionizing radiation 1988 Report, New York, p. 592.

YAMAMOTO K.I., KIKUCHI Y.: A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons. *Mutat. Res.* 71, 127-131, 1980.

WEEKS D.E., PATERSON M.C., LANGE K., ANDRAIS B., DAVIS R.C., YODER F., GATTI R.A.: Assessment of cronic radiosensitivity as an in vitro assay for heterozygote identification of Ataxia-Teleangiectasia. *Radiation Research* 128, 90-99, 1991.



(*****) Il Col. vet. Roberto Archilei, proveniente dal 2° Corso dell'Accademia di Sanità Militare Interforze, ha conseguito la laurea in Medicina Veterinaria a Torino nel 1973.

Dopo un breve periodo presso la Direzione di Veterinaria della Regione Militare Nord-Ovest, è stato trasferito al Centro Studi del Corpo Veterinario Militare ove ha ricoperto l'incarico di Ufficiale addetto al 2° Reparto.

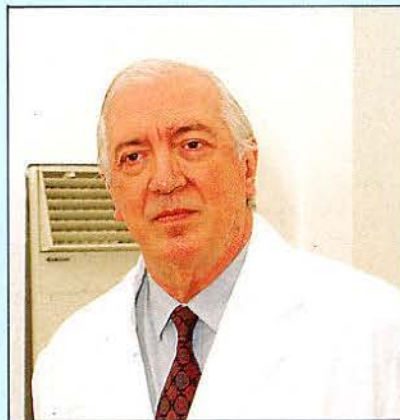
Dal 1978 al 1980 ha prestato servizio presso il Reggimento Carabinieri a cavallo in qualità di Dirigente del Servizio Veterinario Reggimentale.

Assegnato nuovamente al Centro Studi ha ricoperto gli incarichi di Capo del 2° Reparto, Direttore Interinale e Direttore in sede vacante.

Ha frequentato il 3° corso teorico-pratico su «La vigilanza igienico-sanitaria e annonaria dei prodotti alimentari della pesca» ed il corso di aggiornamento in «Tecnologia e controllo igienico-sanitario dei prodotti caseari».

Specializzato in malattie dei piccoli animali è autore di pubblicazioni scientifiche riguardanti la clinica, la microbiologia, la parasitologia e l'ispezione degli alimenti.

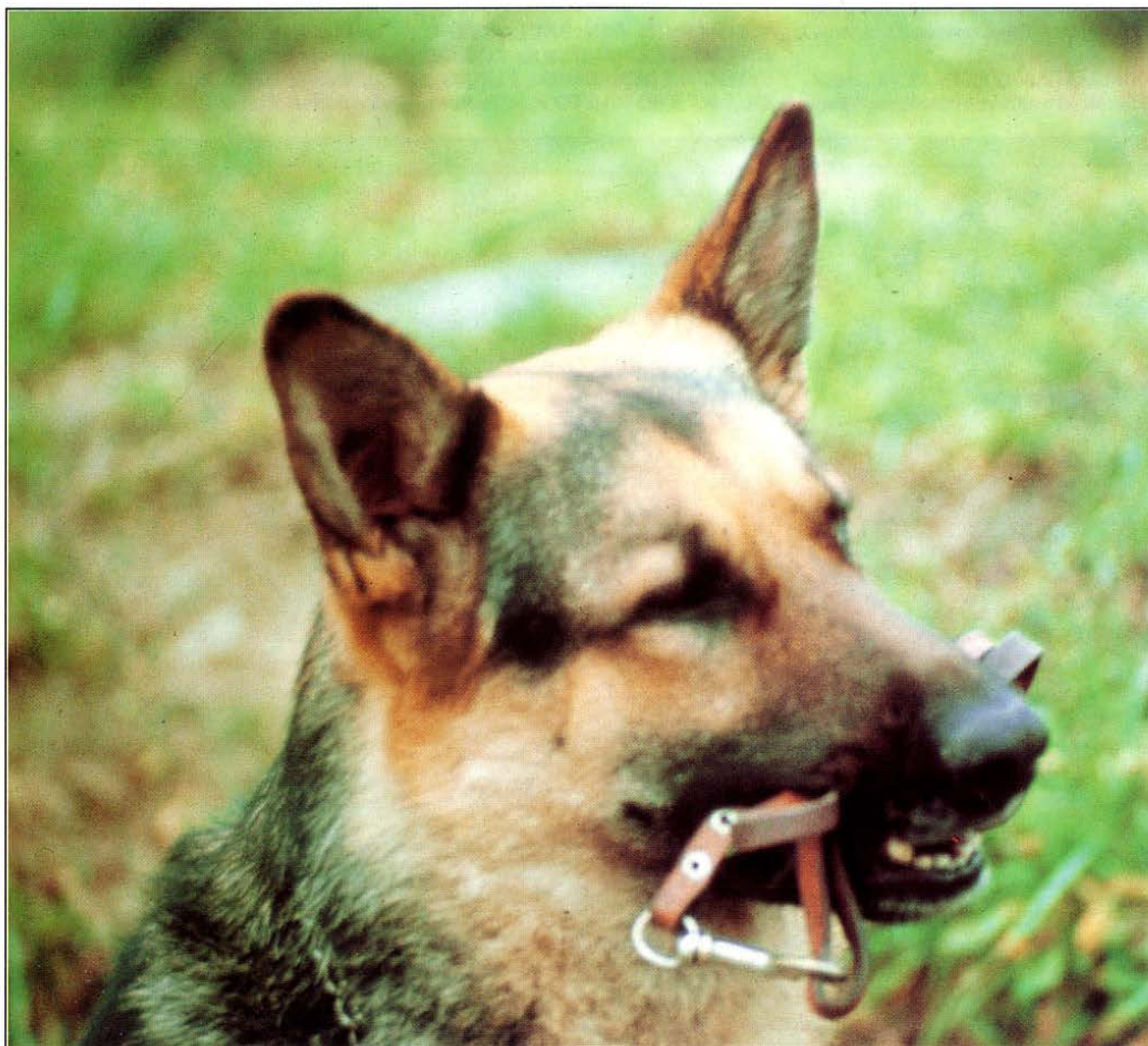
Ha partecipato, in qualità di delegato italiano, a numerosi congressi internazionali sull'igiene degli alimenti.



(*****) Il Prof. Enzo Righi è dirigente di ricerca e Direttore del Servizio Sanitario dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare. Ha svolto e svolge attività didattica presso la Scuola di Specializzazione in Medicina Nucleare dell'Università degli Studi di Padova e presso la Scuola di Specializzazione in Fisica Sanitaria dell'Università degli Studi «La Sapienza» di Roma. È autore di pubblicazioni su temi di medicina del lavoro, radioprotezione medica, ematologia e dosimetria citogenetica.

I GRUPPI SANGUIGNI DEL CANE STORIA, SIEROLOGIA, GENETICA E FREQUENZA.

Continanza R. (*), Campanella O. F. (), Lubas G. (***)**



RIASSUNTO

Parole chiave: Cane, Gruppi sanguigni, Sierologia, Genetica.

L'immunoematologia del cane non ha ancora raggiunto i livelli di sviluppo scientifico documentati in altre specie animali con un indirizzo zootecnico ed economico più importante. Infatti dopo un iniziale stimolo, parallelo alle scoperte immunoematologiche dell'uomo e in altri animali da laboratorio, e terminato il vasto impiego del cane come modello di studi per i trapianti d'organo, la scienza ha perlopiù trascurato un approfondimento delle conoscenze in questa specie.

In questa prima parte sono state raccolte le notizie storiche sui gruppi sanguigni del cane, la nomenclatura (importante per comprendere i progressi finora ottenuti) e le attuali conoscenze sulla sierologia (permette l'evidenziazione dei vari fattori di gruppo sanguigno) e sulla genetica (ne chiarisce le modalità di trasmissione). Infine sono stati riportati i dati finora pubblicati sulla frequenza e sulla distribuzione dei vari fattori di gruppo sanguigno nei meticci ed in alcune razze pure.

SUMMARY

Key words: dog, blood groups, serology, genetics.

Immunohematology in the dog still did not reach the levels of scientific development as they are known in other species with a more favorable address in zootechnical and economic fields. Indeed after an initial stimulus, parallel to the discovery of immunohematology in man and in other laboratory animals, and ended the large employment of dogs as research models for organ transplantations, the science has for the most disregarded deeply studies in this animal.

In this part of two, have been reviewed the historical news on dog blood groups, the nomenclature, rather important to understand the progress until nowadays, and the recent knowledges on the serology, allowing the characterization of blood group factors, and on genetics, explaining the inheritance mode. Finally have been reported the data published until now on the frequency and distribution of the several blood group factors in mongrels and purebreds.

INTRODUZIONE

L'immunoematologia del cane, dopo un iniziale fervore scientifico negli anni tra il '50 e '70, non ha più ricevuto attenzioni degne di nota (1,34). Infatti il cane era servito come modello di studio per il complesso problema dei trapianti d'organo nell'uomo, che proprio negli anni '70 muoveva i primi passi. In seguito affermarsi le relative tecniche nell'uomo, il cane come modello sperimentale è stato abbandonato e la scienza veterinaria non ha proseguito sulla strada inizialmente intrapresa (1,34). Pertanto dalla ricognizione bibliografica il lavoro più completo sui gruppi sanguigni nel cane risale al 1980 e solo di recente un altro lavoro ha trattato in modo dettagliato un solo sistema di gruppo sanguigno (7, 8, 35). Da allora null'altro è stato più scritto od applicato alla immunoematologia, nonostante vi sia stato in tutti i paesi occidentali un sensibile incremento nell'interesse verso questa specie. Nelle altre specie animali, invece, con un indirizzo zootecnico più favorevole dal punto di vista com-

merciale, le segnalazioni e le documentazioni sui gruppi sanguigni sono aumentate anno dopo anno.

In questa prima nota sono state riportate le notizie storiche che hanno condotto alla definizione attuale dei diversi sistemi di gruppo sanguigno nel cane, nelle quali si riscontrano la prevalenza di segnalazioni da parte di ricercatori dell'area di medicina umana. Esiste ancora un problema irrisolto sulla nomenclatura più corretta da impiegare per i gruppi sanguigni che comporta delle notevoli difficoltà interpretative da parte anche di colui che si accinge a leggere questo articolo.

Sono stati elencati e commentati i vari sistemi di gruppo sanguigno con i diversi fattori, descrivendo sia le singolari caratteristiche sierologiche per la loro evidenziazione, che le modalità di eredità.

Infine dalla scarsa bibliografia disponibile è stato tracciato un quadro, ancora piuttosto impreciso, della distribuzione e della frequenza dei vari fattori di gruppo sanguigno nei meticci ed in alcune razze pure di cani.

RICHIAMI STORICI

Nel 1910 Von Dungern ed Hirschfeld identificarono per primi, nel cane, quattro differenti gruppi sanguigni (chiamati A, AB, B, ed O) utilizzando agglutinine naturali (37).

Successivamente Brokmann nel 1911 (5), Fishbein nel 1913 (14) e Wesczky nel 1920 (41) studiarono le reazioni di emoagglutinazione nel cane e molti dei primi ricercatori, che si dedicarono allo studio dei gruppi sanguigni del cane, sottolinearono l'importanza degli anticorpi sia agglutinanti che emolitici, di natura alloimmune, che si potevano formare in seguito a trasfusione ematica (22, 24, 26, 42). Anche Melnick e Cowgill classificarono i cani nei gruppi α e β in base alla reazione tra eritrociti ed agglutinine immuni (24), mentre Olson (25), Hamilton (16) Eyquem (13) studiarono le emoagglutinine naturali in cani sani e malati.

Il primo approccio sistematico allo studio dei gruppi sanguigni del cane si deve a Swisher e collaboratori dell'Università di Rochester, New York, nel periodo compreso



dal 1949 al 1961 (6, 32, 33, 34, 42, 43, 44, 45, 46). Queste ricerche misero in luce anche i meccanismi della distruzione degli eritrociti incompatibili da parte degli anticorpi immuni (43, 45). Inizialmente furono effettuate, senza alcun criterio selettivo, delle immunizzazioni tra cani che portarono alla produzione di sette reagenti. Tali reagenti furono indicati in base all'ordine di scoperta come Anti-A, B, C, D, E, F e G. In seguito gli antisieri anti-E e G furono esauriti e non fu più possibile paragonarli con altri reagenti prodotti in anni seguenti.

Anche Rubinstein ed altri nel 1968 prepararono dodici agglutinine monospecifiche, di cui undici

(denominate Anti-1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12) da cani che avevano ricevuto ripetuti trapianti di pelle o/e iniezioni di estratti di linfonodi allogenici; la dodicesima (anti-6) invece era una agglutinina naturale presente nel 70% dei 200 cani testati, che agglutinava fortemente eritrociti umani di tipo A1, ma non alcuni eritrociti di tipo A2 (28). L'anti-4 imitava l'anti-D di Swisher e Young, ma le altre agglutinine non avevano nessuna relazione con l'anti-A, C o D. Comunque con questi reagenti non furono comparati l'anti-B, E, F e G.

Suzuki e colleghi nel 1975 produssero sette reagenti per la tipizzazione del sangue di cane per mezzo

di alloimmunizzazioni (31). I reagenti 1, 2 e 3 furono identificati rispettivamente analoghi all'anti-A, A1 e B, mentre i rimanenti quattro (dal n. 4 al n. 7) non presentavano alcuna relazione con i reagenti precedentemente noti e pertanto fu ipotizzato che riconoscessero nuovi antigeni sugli eritrociti. Inoltre i fattori di gruppo sanguigno 6 e 7 formavano un sistema chiuso.

Un ulteriore contributo nello studio dei gruppi sanguigni del cane fu apportato da Colling e Saison nel 1980, che descrissero tredici reagenti alloimmuni, sette dei quali presentavano un parallelismo con i reagenti fino ad allora noti e cioè anti-A, A1, B, C, D, F e Tr (7,8). I rimanenti sei nuovi reagenti furono arbitrariamente chiamati anti-J, K, L, M, N ed O.

Numerose sono state inoltre le segnalazioni per rilevare le correlazioni sierologiche tra i gruppi sanguigni del cane e quelli dell'uomo. Tra queste citiamo Bowdler e coll., che utilizzando anticorpi alloimmuni e naturali, descrissero un antigene del cane, il Tr (Tr sta per Transplantation, cioè trapianto), che era correlato all'antigene A umano eritrocitario, grazie a studi di inibizione dell'agglutinazione con saliva umana (3). È stato dedotto che l'anti-6 di Rubinstein e coll., e l'anti-Tr fossero reagenti identici (28).

Sempre Bowdler e coll. nel 1973 riuscirono ad identificare un reagente di gruppo sanguigno H (umano) nella saliva del cane, ma non sugli eritrociti (2). Horowitz e colleghi nel 1961 trovarono nel succo gastrico di cani delle sostanze di gruppo sanguigno umano riferibili alle specificità A ed H (18).

Tandon e Naik nel 1976 esaminarono 56 cani con i reagenti di gruppo sanguigno A, B ed H dell'uomo e dimostrarono che la sostanza H era presente nella saliva e negli eritrociti di tutti i cani esaminati; inoltre notarono che il 92,8% dei cani erano A secretori, il 25% B secretori e che il 64% presentava sugli eritrociti l'antigene A ed il 100% l'an-

Tabella 1. Le principali nomenclature dei gruppi sanguigni del cane e chiave interpretativa a livello di sistemi, fattori, alleli, fenotipi e genotipi (modificato da 1, 7, 29, 35).

Originari	CEA	DEA	Sistemi	fattori	alleli	fenotipi	genotipi
A1	1	1.1	A	a ¹	A ^{a1}	A(a1)	A ^{a1} /A ^{a1} , A ^{a1} /A ^{a2} , A ^{a1} /A ^{a3} , A ^{a1} /A ⁻
A2(A')	2	1.2		a ² a ³ -	A ^{a2} A ^{a3} A ⁻	A(a2) A(a3) A(-)	A ^{a2} /A ^{a2} , A ^{a2} /A ^{a3} , A ^{a2} /A ⁻ A ^{a3} /A ^{a3} , A ^{a3} /A ⁻ A ⁻ /A ⁻
B	3	3	B	a -	B ^a B ⁻	B(a) B(-)	B ^a /B ^a , B ^a /B ⁻ B ⁻ /B ⁻
C	4	4	C	a -	C ^a C ⁻	C(a) C(-)	C ^a /C ^a , C ^a /C ⁻ C ⁻ /C ⁻
D	5	5	D	a -	D ^a D ⁻	D(a) D(-)	D ^a /D ^a , D ^a /D ⁻ D ⁻ /D ⁻
F	6	6	F	a -	F ^a F ⁻	F(a) F(-)	F ^a /F ^a , F ^a /F ⁻ F ⁻ /F ⁻
Tr	7	7	Tr	tr 0 -	Tr ^{tr} Tr ⁰ Tr ⁻	Tr(tr) Tr(0) Tr(-)	Tr ^{tr} /Tr ^{tr} , Tr ^{tr} /Tr ⁰ , Tr ^{tr} /Tr ⁻ Tr ⁰ /Tr ⁰ , Tr ⁰ /Tr ⁻ Tr ⁻ /Tr ⁻
- -	-	-	J	a -	J ^a J ⁻	J(a) J(-)	J ^a /J ^a , J ^a /J ⁻ J ⁻ /J ⁻
- -	-	-	K	a -	K ^a K ⁻	K(a) K(-)	K ^a /K ^a , K ^a /K ⁻ K ⁻ /K ⁻
- -	-	-	L	a -	L ^a L ⁻	L(a) L(-)	L ^a /L ^a , L ^a /L ⁻ L ⁻ /L ⁻
- -	-	-	M	a -	M ^a M ⁻	M(a) M(-)	M ^a /M ^a , M ^a /M ⁻ M ⁻ /M ⁻
- -	-	-	N	a -	N ^a N ⁻	N(a) N(-)	N ^a /N ^a , N ^a /N ⁻ N ⁻ /N ⁻

tigene B (36). Nel siero dei cani furono rilevati anticorpi anti-A, anti-B ed Anti-(A + B) (36). Solo nel 19% di sieri di cani erano assenti anticorpi Anti-A, B ed O (17).

Grazie agli studi sugli eritrociti del cane è stato identificata una eterogeneità dell'antigene Pr1, il quale è rilevato sia nell'uomo che nell'animale (27). Il Pr2, invece, si può trovare sugli eritrociti del cane solo dopo trattamento con papaina (27).

Altre indagini sui gruppi sanguigni del cane sono state condotte

sporadicamente in altre nazioni come il Giappone (11, 12), Egitto (15, 16, 17, 18, 19, 20, 21) e Germania (38).

NOMENCLATURA

Come risulta evidente nel precedente capitolo, i gruppi sanguigni del cane hanno avuto diverse denominazioni. Ciò è da imputare alla mancanza di coordinamento tra i diversi ricercatori per l'esecuzione

di appropriati test comparativi tra i vari antisieri prodotti. Questo invece non è accaduto per altre specie animali zootecnicamente utili, dove i gruppi sanguigni figurano come elementi determinanti del complesso dei marcatori genetici ed all'uopo vi sono commissioni di ricercatori appositamente istituite nell'ambito dell'ISAG (International Society of Animal Genetics), per uniformare la nomenclatura e la standardizzazione dei reagenti.

Comunque, nel cane, inizialmente

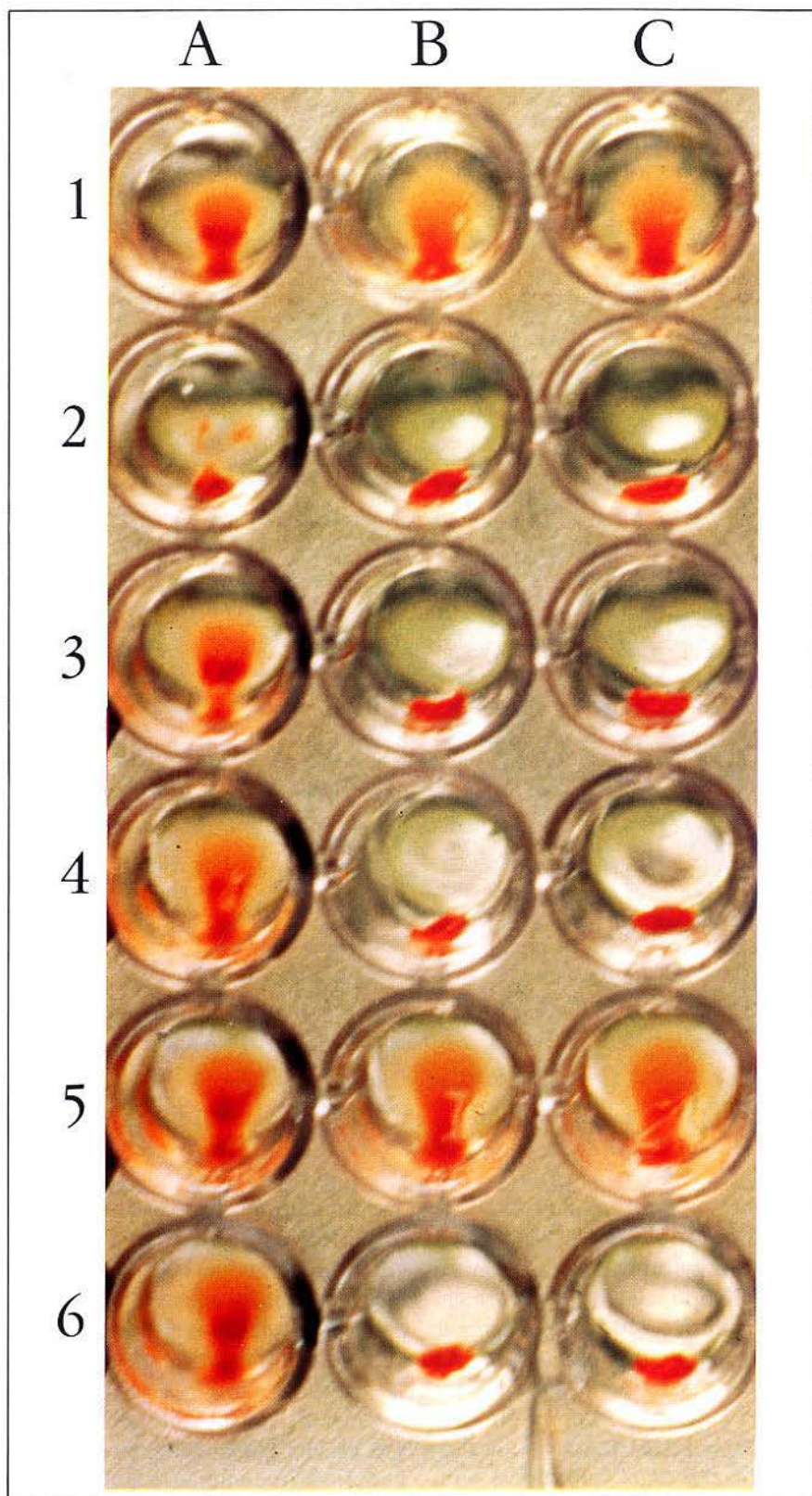


Foto 1

Piastra alveolata preparata per la prova di agglutinazione. Nei pozzetti sono seminati 25 μ l di reagente di gruppo sanguigno e 25 μ l di una sospensione eritrocitaria in PBS al 3%. Quindi si incuba a 37°C e si effettuano due letture a 20' e 40' inclinando leggermente la piastra in modo da far 'filare' le masserelle eritrocitarie depositate al fondo dei pozzetti. La reazione negativa è visualizzata nei pozzetti in cui le masserelle eritrocitarie si dispongono 'a linea' (pozzetti A 1, 3, 4, 5, 6; B 1,5; C 1,5). La reazione positiva è osservabile nei pozzetti in cui le masserelle eritrocitarie si dispongono a semiluna (aggregati) sul lato dei pozzetti (pozzetti A 2; B 2, 3, 4, 6; C 2, 3, 4, 6).

st'ultimo in precedenza denominato A') erano chiamati in questo modo convenzionale. L'assenza del fattore era indicata dalla corrispondente lettera minuscola (34).

Una nuova nomenclatura fu adottata nel corso del Primo Convegno Internazionale sulla Immunogenetica del Cane nel 1973, dove fu assegnato un numero a ciascun fattore, preceduto dalla sigla CEA (Canine Erythrocyte Antigen = Antigene Eritrocitario Canino) (39).

Nel 1976 a seguito del Secondo Convegno Internazionale sulla Immunogenetica del Cane la sigla CEA, per evitare confusione con l'antigene carcinoembrionale, che ha la stessa simbologia, fu sostituita da quella DEA (Dog Erythrocyte Antigen = Antigene Eritrocitario del Cane) (4, 40).

Infine Colling e Saison proposero una ulteriore nuova nomenclatura (riportata in tabella 1), basata su quella comunemente impiegata per gli ovini, suini ed equini (7, 8, 29). Purtroppo al momento attuale la denominazione accettata è sempre quella che utilizza la simbologia DEA, seppure quella proposta da Colling e Saison sembri la più consona dal punto di vista interpretativo genetico.

te i fattori di gruppo sanguigno erano indicati con le lettere maiuscole dell'alfabeto (dal tipo A al tipo G) ed all'interno di uno stesso sistema

i fattori erano espressi con la stessa lettera maiuscola accompagnata da un numero o da un esponente. Ad esempio i sottotipi A1 ed A2 (que-

REAGENTI

Gli anticorpi naturali sono di limitata utilità negli studi dei gruppi

Tabella 2. Tipo di reazione sierologica ottimale per ciascun antisiero (modificata da 1, 7, 29, 35).

Reagenti	Agglutinazione diretta	Agglutinazione indiretta (Coombs)	Test emolitico	Test capillare papaina
anti-A (DEA 1.1,2)	+	+	+	+
anti A ¹ (DEA 1.1)	-	+	+	(+)
anti A ¹ (DEA 1.2)	-	+	+	nt
anti-A ³	+	+	+	nt
anti-B (DEA 3)	+	-	-	-
anti-C (DEA 4)	+	-	-	-
anti-D (DEA 5)	+	(+)	-	-
anti-F (DEA 6)	+	-	-	-
anti-Tr (DEA 7)	+	-	(+)	(+)
anti-J	-	+	-	-
anti-K	-	+	-	-
anti-L	-	+	-	-
anti-M	-	+	-	-
anti-N	-	+	-	-
anti-O	+	-	(+)	-

Note: + = reazione ottimale; (+) = reazione alternativa o di seconda scelta; - = assenza di reazione; nt = non testato.

sanguigni del cane, in quanto il titolo, raramente, è superiore di 1:8 ed hanno specificità solo contro il DEA 3, 4, 5 e 7 (1, 4, 7, 34).

Pertanto i vari reagenti di gruppo sanguigno del cane sono prodotti per mezzo di alloimmunizzazioni tramite ripetute trasfusioni di sangue incompatibile. In genere ciò prevede l'iniezione endovenosa di una certa quantità di sangue intero (da 2 a 20 ml.) una volta alla settimana per 4-6 settimane, da un donatore ad un ricevente i quali sono scelti in base alle loro differenze negli antigeni di gruppo sanguigno. Spesso viene effettuata dopo 3-4 mesi una immunizzazione di richiamo. È stato tentato anche l'uso di antisiero prodotto nei conigli, ma con modesti risultati, in quanto è stata ottenuta solo una debole lisi anti-A (DEA 1) (1, 4, 7, 34).

Gli antigeni di gruppo sanguigno del cane mostrano una marcata variazione nell'antigenicità. La maggior parte dei cani A- (DEA 1-) quando sono immunizzati con eritrociti A+ (DEA 1+) sviluppano

sostanziali titoli di anti-A (DEA 1) entro 40 giorni, ma alcuni cani anche entro 9 giorni. L'antigene C (DEA 4) è ugualmente antigenico, mentre gli anticorpi diretti contro i rimanenti antigeni sono più difficili da produrre. In genere i reagenti DEA 1.1, 1.2, e Aa¹ sono prodotti da una serie di circa 9 immunizzazioni settimanali, mentre gli altri sono prodotti con immunizzazioni di richiamo (1, 4, 7, 34).

TEST SIEROLOGICI

L'agglutinazione a 4°C oppure a 37°C, in soluzione fisiologica od in PBS (Phosphate Buffer Saline = fisiologica tamponata con fosfato), l'emolisi ed il test antiglobulinico a 37°C sono stati standardizzati, descritti in dettaglio ed utilizzati da vari studiosi per il rilevamento dei fattori di gruppo sanguigno del cane (7, 8, 31, 34, 35).

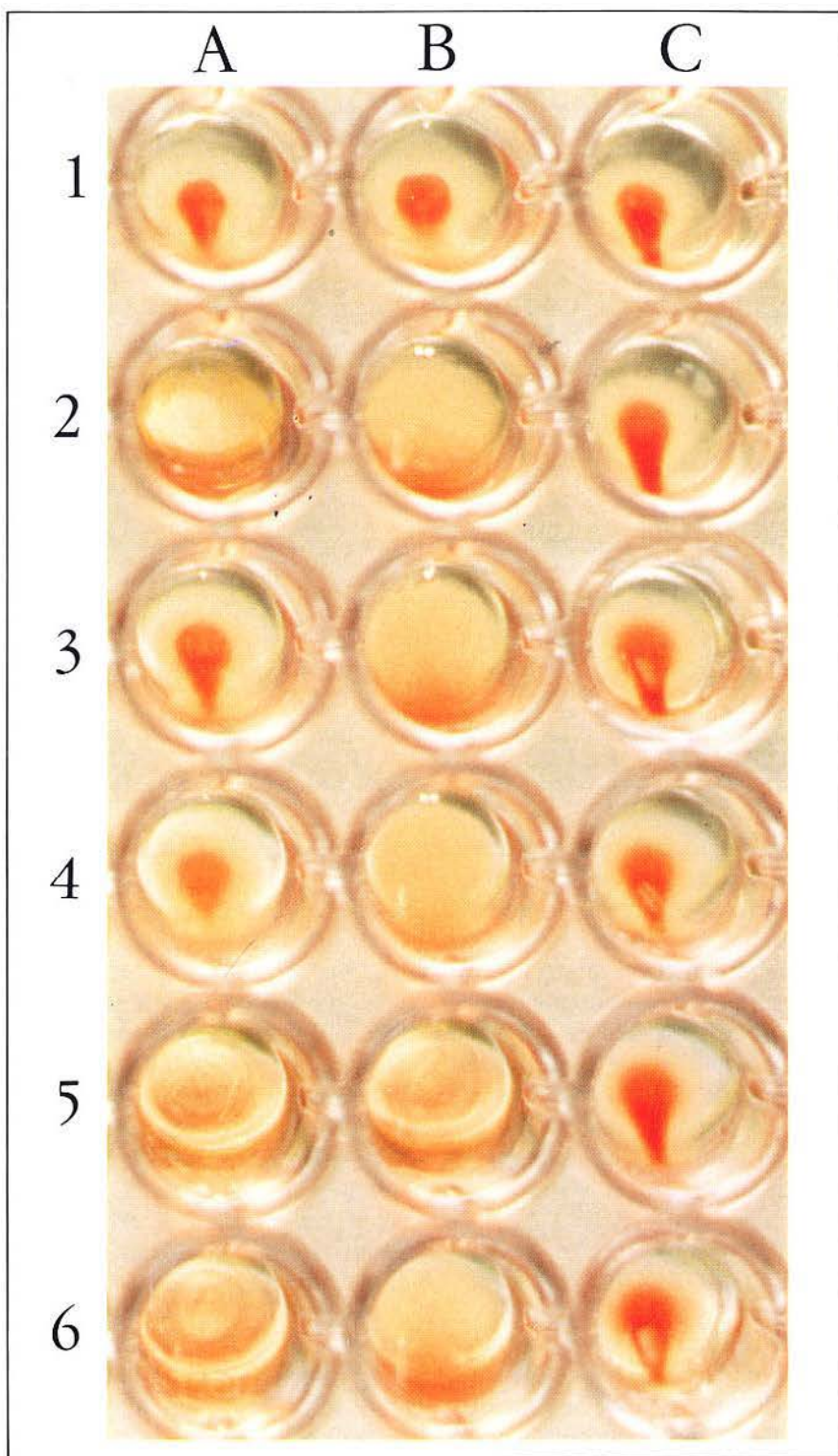
La fonte di complemento per l'anti-DEA 1 in emolisi è costituito sia da siero fresco di cane che da

siero di coniglio previamente adsorbito con eritrociti di cane per rimuovere gli eteroanticorpi e conservato per congelamento (7, 8, 31, 34, 35).

È noto inoltre, da tempo, che gli eritrociti di cane vanno incontro ad una progressiva e spontanea emolisi in presenza di siero di cane sano. Per rimuovere questa componente litica non complementare sono raccomandate due serie di adsorbimenti, della durata di 20', usando l'antisiero non diluito in rapporto di 1:2 con gli stessi eritrociti del cane sieroprodotto, previamente riscaldato a 56°C per rimuovere il complemento (30).

SISTEMI GENETICI

Allo stato attuale sono stati descritti tredici reagenti per definire i rispettivi fattori di gruppo (vedi tab. 1). Sebbene molti di questi fattori siano noti da tempo, le documentazioni scientifiche di carattere genetico sono rimaste piuttosto scarse.



Sistema A (DEA 1)

Questo sistema di recente è stato oggetto di un'ampia trattazione e vi sono stati inclusi i sottotipi Aa¹ (DEA 1.1), Aa² (DEA 1.2) ed

Aa³(34,35). I primi due sottotipi erano noti da lungo tempo e per questi infatti esiste la nomenclatura DEA, il terzo è stato evidenziato di recente (34, 35). Per il dettaglio fenotipico e genotipico vedi tabella 1,

Foto 2

Piastra alveolata allestita per la prova di emolisi. Nei pozzetti sono seminati 25 µl di una sospensione eritrocitaria in PBS al 3%. Si incuba a 37°C per 10' e poi si aggiunge 25 µl di complemento. Dopo un'ulteriore incubazione a 37°C si effettuano due letture a 20' e 40'. La reazione negativa è visualizzata nei pozzetti in cui si continuano ad osservare le masserelle eritrocitarie (A 1, 3, 4; B 1; C 1, 2, 3, 4, 5, 6). La reazione positiva è osservabile nei pozzetti uniformemente colorati in rosa dove sono scomparse le masserelle eritrocitarie e dove appunto si è verificato l'emolisi (A 2, 5, 6; B 2, 3, 4, 5, 6).

mentre per quello sierologico vedi tabella 2. Per questo sistema è riportata anche l'azione dell'antisiero totale anti-A (DEA 1,1.2), che quindi comprende i due sottotipi, che spesso viene citata in letteratura (4, 34).

Sistema Tr (DEA 7).

L'antigene Tr è definito grazie ad agglutinine immuni o naturali ed è sierologicamente correlato con l'antigene A umano, con l'antigene J del bovino, l'R dell'ovino e l'A del suino, come dimostrato dalle cross reattività di questi reagenti (3, 8, 28). Il Tr non è un vero antigene eritrocitario, ma è prodotto dai tessuti e poi adsorbito sugli eritrociti e si può dimostrare anche nella saliva del cane (3, 8, 28). Il sistema comprende il fattore O che si rileva anche con l'emolisi (8). Questo sistema ha quindi due fattori (Tr ed O) e tre fenotipi (Tr, O e tr-) e non si rilevano soggetti con la presenza contemporanea di entrambi gli antigeni (8). Gli studi genetici indicano infatti che il Tr è dominante sull'O oscurandolo completamente ed il fenotipo negativo è originato dall'azione di un gene epistatico (8). L'ereditarietà dei fattori Tr ed O, è molto simile a quella dei sistemi R ed A, rispettivamente della pecora e del suino (8). Inoltre l'antigene Tr ed un antigene secretore del cane, il CSA-A (CSA = Canine Secretory Antigen), sono strettamente associati, perché è stato rilevato che in alcune famiglie segregavano insie-

Tabella 3. Frequenza degli alleli di gruppo sanguigno in varie razze di cani.

Alleli	Razze miste Usa (7, 8, 32)	Meticci Olanda (40)	Beagle Olanda (40)	Retriever Olanda (40)	Pastore tedesco Australia (35)	Meticci Australia (35)
n. animali	ca. 200*	ca. 30	ca. 30	ca. 10	46	319
Aa ¹	.261	.375	.434	.290	.166	.234
Aa ²	.102	.040	.105	.180	.026	.062
Aa ³	-	-	-	-	.132	.068
B	.028	.050	.050	.000	-	-
C	.960	.562	.443	.353	-	-
D	.119	.084	.194	.000	-	-
E	.482	-	-	-	-	-
F	1.000	.736	.755	1.000	-	-
G	1.000	-	-	-	-	-
J	.190	-	-	-	-	-
K	.010	-	-	-	-	-
L	.300	-	-	-	-	-
M	.100	-	-	-	-	-
N	.380	-	-	-	-	-
Tr	.230	.314	.150	.009	-	-
O	.170	-	-	-	-	-
He	-	.168	.168	.105	-	-

Note: non sono elencate le frequenze alleliche degli amorfi; - = frequenza non riportata; ca. = circa (numero medio di animali analizzati).

me, oltre ad essere entrambi sierologicamente correlati all'antigene umano A (40).

Sistemi B, C, D, F (DEA 3, 4, 5, 6)

Questi sistemi di gruppo sanguigno identificati per primi da Swisher e Young sono rilevati in genere per mezzo dell'agglutinazione in fisiologica (7, 34). Hanno un solo fattore, due fenotipi, due alleli e tre genotipi. Per il dettaglio fenotipico e genotipico vedi tabella 1.

Sistemi J, L, M, N

Questi sistemi di gruppo sanguigno identificati da Colling e Saison, sono rilevati per mezzo del test dell'antiglobulina diretto (7). Hanno, come i precedenti un solo fattore, due fenotipi, due alleli e tre genotipi. Per il dettaglio fenotipico e genotipico vedi tabella 1.

Specificità non classificate

Come in precedenza descritto,

Rubinstein e coll. riportarono dodici nuovi isoagglutinine, i cui antigeni riconosciuti apparivano essere ereditati come indipendenti tra loro e come caratteri autosomici dominanti (28). A parte l'anti-6 analogo all'anti-Tr, non si conosce se una qualsiasi delle altre undici specificità corrisponde a quelle descritte da Colling e Saison. È possibile che questi due gruppi di ricercatori abbiano descritto antigeni simili, poiché Rubinstein e coll. usarono il test al Destrano, mentre Colling e Saison utilizzando i test antiglobulinici per l'evidenziazione dei loro nuovi antigeni, quali il J, K, L, M ed N (7, 28). Entrambi i gruppi potevano aver riportato specificità simili, ma non è stato possibile effettuare alcun paragone e l'ipotesi è rimasta soltanto speculativa.

Suzuki e coll. invece produssero quattro nuovi reagenti e cioè gli anti-4, 5, 6 e 7, che reagivano come agglutinine in fisiologica (31). Pertanto non erano identici agli anti-J, K, L, M ed N, in quanto quest'ulti-

me sono agglutinine incomplete (7, 31). L'ereditarietà di questi quattro antigeni non fu analizzata in dettaglio, ma fu stabilito che i fattori 6 e 7 erano legati tra loro e si ritrovavano solo tre fenotipi, cioè il 6+7-, il 6+7+ ed il 6-7+, in quanto mancava il fenotipo 6-7-(31).

L'unica informazione sul fattore sanguigno denominato He o DEA 8 è reperibile nella rassegna del Primo e del Secondo Congresso Internazionale dell'Immunogenetica del Cane (39, 40). Inoltre nel Secondo Congresso del 1976 furono elencati un nuovo gruppo di antigeni dal n. 1 al n. 8, ma non è noto se alcuni di essi corrispondessero agli antigeni J, K, L, M, N ed O di Colling & Saison od ad alcuni descritti da Rubinstein e coll. od ancora a quelli di Suzuki ed coll. (40).

Distribuzione nella popolazione dei vari antigeni

In tabella 3 sono stati riportati i valori dei vari antigeni di gruppo

sanguigno espressi come frequenza allelica (o genica) in alcune razze di cani allevati in paesi dove è stata possibile la emotipizzazione sufficientemente standardizzata e comparabile tramite l'uso di antisieri con appropriata nomenclatura e specificità (7, 8, 34, 35, 40). Purtroppo i lavori scientifici al riguardo sono estraneamente scarsi, come ridotta si presenta la campinatura esaminata e non vi sono documentazioni per tutte le razze canine. Inoltre i valori della frequenza allelica possono trarre in inganno dal punto di vista pratico (sierologico) in quanto se si considera una popolazione in sufficiente equilibrio genetico tanto da poter applicare la formula di Hardy-Weinberg (assenza di consanguineità elevata e numero di riproduttori sufficientemente ampio), ad es. i soggetti meticcii allevati in Australia sierologicamente positivi al fattore A (con i tre sottotipi) sono 190 su 319 soggetti totali considerati, mentre ovviamente i rimanenti 129 sono sierologicamente A negativi (35). Solo ultimamente anche in Italia è possibile effettuare la tipizzazione, ma per i soli fattori DEA 1 e DEA 7 (9). In un'indagine che è stata svolta su un campione di n. 167 soggetti da Pastore Tedesco è risultato che solo 15 erano positivi al DEA 1, mentre in un campione di n. 23 Beagle ben 17 erano positivi al DEA 1.(9).

FINE 1ª PARTE

Vocabolario di Immunematologia

Per aiutare nella comprensione di questo articolo è stato preparato un elenco dei termini più usati con la relativa spiegazione.

Agglutinine (iso-, emo-) = anticorpi agglutinanti

Allele = la sua presenza, in forma alternativa del gene, è in grado di produrre la sostanza antigene e cioè

il fattore di gruppo sanguigno.

Allo = prefisso, vedi iso.

Antigene (di gruppo sanguigno) = vedi fattore (di gruppo sanguigno).

Etero = (prefisso) tra specie diverse; è preferibile usare xeno.

Fattore (di gruppo sanguigno) = unità molecolare complessa con proprietà antigene specifiche, determinata geneticamente e quindi soggetta a segregazione.

Immuni (allo-, iso-, anticorpi) = aggettivo per anticorpi prodotti in seguito ad una stimolazione antigenica nota.

Immunizzazione (allo-, iso-) = processo di stimolazione per la formazione di anticorpi specifici.

Iso = (prefisso) tra individui geneticamente identici; per consuetudine indica invece 'individui geneticamente differenti, ma appartenenti alla stessa specie'; il prefisso più appropriato è 'allo'

Lisina (emo) = anticorpo che agisce con proprietà emolisanti, sfruttando l'azione sinergica del complemento.

Naturali (anticorpi, agglutinine etc...) = anticorpi presenti spontaneamente nel siero, la cui presenza non è possibile far risalire ad alcun processo di stimolazione nota.

Sistema (genetico, di gruppo sanguigno) = raggruppamento geneticamente idoneo dove sono incluse tutte le varianti alleliche dello stesso gene.

Sistema chiuso (genetico, di gruppo sanguigno) = è presente un fenotipo silente, che quindi non è possibile evidenziare.

Sottotipo = è il frazionamento della reazione di un reagente ottenuta per mezzo di specifici adsorbimenti che risulta nel riconoscimento di un ulteriore antigene di gruppo sanguigno derivato da quello principale e quindi cross reagente con questo. In pratica si individua anche una variante allelica a cui corrisponde un nuovo fattore di gruppo sanguigno appartenente allo stesso sistema.

Specificità = vedi antigene e/o fattore.

BIBLIOGRAFIA

- 1) BELL K. — The blood groups of domestic mammals in: Agar N.C. & Board P.G. (1983) Red Blood Cells of Domestic Animals — Elsevier edit., Amsterdam.
- 2) BOWDLER A.J., BULL R.W., DRIES C., SLATING R., SWISHER S.N. — Representation of the ABH blood group system in the dog — Vox Sang., 24, 228-235, 1933.
- 3) BOWDLER A.J., BULL R.W., SLATING R., SWISHER S.N. — Tr.: a canine red cell antigen related to the A-antigen in human red cells — Vox Sang., 20, 542-544, 1971.
- 4) BULL R.W., SAISON R., SWISHER S.N. — Current status of the dog erythrocyte antigen (DEA) system, Anim. Blood Grps Biochem. Genetics, 8, suppl., 12, 1977.
- 5) BROKMANN H. — Z. Immun. Forsch., 9., 87, 1911.
- 6) CHRISTIAN R.M., ERVIN D.M., YOUNG L.E. — Observations on the in-vitro behaviour of dog isoantibodies — J. Immunol., 66:37-49, 1951.
- 7) COLLING D.T. & SAISON R. (1980) Canine blood groups. 1. Description of new erythrocyte specificities — Anim. Blood Grps Biochem. Genet., 11, 1 — 12.
- 8) COLLING D.T. & SAISON R. (1980) Canine blood groups. 2. Description of a new allele in the Tr blood group system — Anim. Blood Grps Biochem. Genet., 11, 13-20.
- 9) CONTINANZA R., LUBAS G., GUGLIUCCI B. — Antigeni eritrocitari principali nel cane. Ricerche preliminari — Atti S.I.S. Vet. 1991, in stampa.
- 10) DOZZA G. — La trasfusione di sangue e di plasma negli animali domestici — Suppl. «Veterinaria Italiana», VI, 6, 789-871, 1955.
- 11) EJIMA H., KUROKAWA K., IKEMOTO S. — Comparison test of antibodies for dog blood grouping — Jpn. J. Vet. Sci., 42, 435-441, 1980.
- 12) EJIMA H., KUROKAWA K.,

- IKEMOTO S. — DEA 1 blood group system of dogs reared in Japan — *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44, 815-817, 1982.
- 13) EYQUEM A. — Reproduction de la maladie hemolytique experimentale a l'aide d'iso-immuns-serum — *Compt. Rend. Soc. Biol.* 142: 133, 1948.
- 14) FISHBEIN M. — *J. Inf. Dis.*, 12, 133, 191.
- 15) KAMEL S.H. & EZZAT E.A. — Study of the frequency of blood group antigens and their combination in dogs — *Zentralblutt Vet. Med Reihe A*, 16, 712-716, 1968.
- 16) HAMILTON A.S. — Study of in vitro methods for the demonstration of iso-agglutination with the blood of normal and ill dogs — *Am. J. Physiol.* 154: 525-531, 1949.
- 17) HENNEVELD L., SLEE G.J., VRIESENDORP H.M., VESTBROEK D.L. — *Tissue Antigens* 3, 165, 1973.
- 18) HOROWITZ M.I., SWISHER S.N., TREBOLD N., HOLLANDER F. — Blood group substances in canine gastric mucus and acid secretion — *Proc. Soc. Exptl. Biol. med.* 106, 629-632, 1961.
- 19) KAMEL S.H. & EZZAT E.A. — Evolution and heredity of blood groups in dogs — *Zentralblutt Vet. Med Reihe A*, 16, 717-719, 1968.
- 20) KAMEL S.H. & EZZAT E.A. — Studies on blood transfusion in dogs — *Zentralblutt Vet. Med Reihe A*, 16, 720-722, 1968.
- 21) KAMEL S.H. & EZZAT E.A. — Preparation of antisera and identification of blood groups in dogs — *Zentralblutt Vet. Med Reihe A*, 16, 827-833, 1968.
- 22) MC ENERY E.T., IVY A.C., PECHOUS C.E. — The presence of isoagglutinins in the blood of dogs — *Am. J. Physiol.*, 68, 133, 1924.
- 23) MELNICK D., BURACK E., COWGILL G.R. — Development of incompatibilities in dogs by repeated infusion of red blood cells — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 33, 616-621, 1935.
- 24) MELNICK D. & COWGILL G.R. — Differentiation of blood groups in dogs, based on antigenic complexes present in the erythrocytes — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 36, 697-700, 1937.
- 25) OLSON W.H. — Natural isohemagglutination in dogs — *Am. J. Physiol.* 131, 203, 1940.
- 26) OTTENBERG R., Kaliski D.J., Friedman S.S. — Experimental agglutinative and hemolytic transfusions — *J. Med. Research*, 28: 141-145, 1913.
- 27) ROELCKE D. — *Vox Sang.*, 24, 354-361, 1973.
- 28) RUBISTEIN P., MORGADO F., BLUMENSTOCK D.A., FERREBEE J.W. — Isohemoagglutinins and histocompatibility in the dog — *Transplantation*, 6, 961-969, 1968.
- 29) SAISON R. & COLLING D. — A suggested nomenclature for canine red blood cells — *Proc. 16th Intl. Conf. Anim. Blood Grps Biochem. Polym.*, Leningrad 1978, 3, 225-228, 1979.
- 30) STORMONT C. & SUZUKI Y. — The Canine as a Biological Research Model: Immunological, Haematological and Oncological aspects, 127-133, Tech. Info. Centre, US Dept. Energy, 1980.
- 31) SUZUKI Y., STORMONT C., MORRIS B.G., SHIFRINE M., DOBRUCKI R. — New antibodies in dog blood groups — *Transpl. Proc.*, 7, 365-367, 1975.
- 32) SWISHER S.N., IZZO M.J., YOUNG L.E. — A method of quantitative differential agglutination of dog erythrocytes — *J. Lab. Clin. Med.*, 41, 936-945, 1953.
- 33) SWISHER S.N., IZZO M.J., YOUNG L.E. — Post transfusion survival of fresh and stored dog erythrocytes measured by differential agglutination — *J. Lab. Clin. Med.*, 41, 946-952, 1953.
- 34) SWISHER S.N. & YOUNG L.E. — The blood grouping of dogs — *Physiol. Rev.*, 41, 495-520, 1961.
- 35) SYMONS M. & BELL K. — Expansion of the canine A blood group system — *Anim. Genetics*, 22, 227-235, 1991.
- 36) TANDON K.N. & NAIK S.N. — *Indian J. Exp. Biol.*, 14, 97-99, 1976.
- 37) VON DUNGERN E. & HIRSCHFELD L. — Ueber nachweis und venerbung biochemischer strukturen — *S. Immunitätsforsch.* 4:531, 1910.
- 38) VON KOCH J. & NIESSEN C. — Blutgruppenbestimmungen beim Hund — *Dtsch. Teirärztl. Wschr.*, 80, 341-368, 1973.
- 39) VRIESENDORP H.M. et al. — Joint report on the 1st International Workshop on Canine Immunogenetics — *Tissue Antigens* 3, 145-172, 1973.
- 40) VRIESENDORP H.M. et al. — Joint report on the 2nd International Workshop on Canine Immunogenetics — *Transpl. Proc.*, 7, 289-314, 1976.
- 41) WESZCZKY O. — *Biochem. Z.*, 107, 159, 1920.
- 42) WRIGHT A. — Isohemolysins and isoagglutinins occurring in dogs — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 34, 440, 1936.
- 43) YOUNG L.E., CHRISTIAN R.M., ERVIN D.M., SWISHER S.N., O'BRIEN W.A., STEWART W.B., YUILE C.L. — Erythrocyte-isoantibody reactions in dogs — *Proc. Intern. Soc. Hematol.*, 1950, p. 226.
- 44) YOUNG L.E., ERVIN D.M., YUILE C.L. — Hemolytic reactions produced in dogs by transfusion of incompatible dog blood and plasma. I. Serologic and hematologic aspects — *Blood*, 4, 1218, 1949.
- 45) YOUNG L.E., O'BRIEN W.A., MILLER G., SWISHER S.N., ERVIN D.M., YUILE C.L., CHRISTIAN R.M. — Erythrocyte-isoantibody reactions in dogs — *Trans N.Y. Acad. Sci. Ser. II*, 13, 209, 1951.
- 46) YUILE C.O., VAN ZANDT T.F., ERVIN T.F., YOUNG L.E. — Hemolytic reactions produced in dogs by transfusion of incompatible dog blood and plasma — *Blood*, 4, 1232-1239, 1949.



(*) Continanza Rosmary è nata a Potenza il 28.6.62. Laureata in Medicina Veterinaria presso l'Università di Pisa nel 1988.

Dopo la laurea ha assunto l'incarico di collaboratore libero professionale presso il laboratorio del Centro Studi Gruppi Sanguigni del Cavallo annesso alla Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Pisa.

Dall'anno accademico 1990-91 a tutt'oggi svolge il Dottorato di

Ricerca in «Patologia Ambientale Veterinaria» presso la Clinica Medica Veterinaria dell'Università di Pisa.

È coautrice di alcune pubblicazioni sulla immunoematologia del cavallo e del cane.



(**) Il Cap. Vet. Oddo Fausto Campanella ha conseguito la laurea con lode nel 1984 presso la facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Parma.

Ha frequentato l'83° corso per A.U.C.V. ed è stato nominato Tenente in s.p.e. nel 1986. Ha ricoperto vari incarichi: Dirigente del Servizio veterinario e Capo Servizio Veterinario di G.U.; Segretario e successivamente Ufficiale addetto all'Infermeria presso il

Centro Militare Allevamento Rifornimento Quadrupedi.

Attualmente è responsabile dell'allevamento dei Pastori Tedeschi per le esigenze dell'Esercito.

Ha conseguito la specializzazione in «Malattie dei Piccoli Animali» ed ha frequentato il 9° corso teorico pratico «La vigilanza igienico sanitaria ed annonaria dei prodotti della pesca».



(***) George Lubas è nato a Roma il 5.8.52. Laureato in Medicina Veterinaria presso l'Università di Pisa nel 1975, dove ha anche

conseguito la specializzazione in «Malattie dei Piccoli Animali» nel 1977.

Dal 1976 in poi, presso l'Istituto di Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinaria dell'Università di Pisa, ha condotto la propria carriera didattica e scientifica prima in qualità di Assistente Incaricato (1976), in seguito come Borsista del CNR (1977-1978) infine come Assistente Ordinario (dal 1979).

Professore incaricato dal 1979 al 1989 di «Immunogenetica» nel corso di laurea in Scienze delle Produzioni Animali, Professore Associato dal 1983 a tutt'oggi di «Ematologia Clinica Comparata»

nel corso di laurea in Medicina Veterinaria, Professore Incaricato di «Genetica» nella Scuola di Specializzazione in «Malattie dei Piccoli Animali» dal 1985 a tutt'oggi.

Autore e coautore di circa 80 pubblicazioni inerenti l'immunoematologia e l'ematologia clinica del cavallo, cane, gatto e bovino.

Responsabile del laboratorio dei Gruppi Sanguigni del Cavallo presso l'Università di Pisa, membro della Società Internazionale di Genetica Animale (ISAG), coordinatore, all'interno del Gruppo di Medicina Interna della SCIVAC, della sezione di Diagnostica di Laboratorio.

DERMATOMICOSI DA ASPERGILLUS SPP. IN CAVALLI

Liberti L. (*), Tesei B. (**).



Negli ultimi anni si è assistito ad un aumento delle affezioni cutanee sostenute da miceti che rappresentano un capitolo importante nella dermatologia equina. Le dermatomicosi vengono riscontrate più frequentemente negli allevamenti di ti-

po intensivo in cui gli animali stanno a stretto contatto tra di loro. Fondamentali risultano essere i ricoveri caldo-umidi e sporchi che favoriscono la persistenza e la moltiplicazione dei miceti.

I giovani risultano essere più fa-

cilmente predisposti alle dermatomicosi e ciò probabilmente a causa di una ridotta immunità e di una minor presenza sulla cute di grassi alifatici ad attività fungistatica, abbondantemente presenti invece negli adulti (1).



L'uso di antibiotici ed anti-infiammatori aumentano la sensibilità degli animali non solo all'azione dei miceti patogeni, ma anche di quelli a scarsa patogenicità od opportunisti (2-3).

In base all'importanza che rivestono questi fattori possiamo suddividere le infezioni micotiche in opportunistiche e primitive (3). I miceti patogeni più frequentemente isolati da lesioni cutanee nei cavalli sono risultati il *Tricophyton menta-*

grophytes, *T. equinum*, *Microsporum equinum* e fra gli opportunisti la *Candida albicans*, *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.* (3-4-5-6-7-8).

In Australia sono stati seguiti 568 cavalli in allenamento e 2.535 in riproduzione: su questi si è visto che il 23% dei cavalli in allenamento e l'1,1% di quelli in riproduzione erano clinicamente affetti da lesioni dermatomicotiche. I miceti isolati più frequentemente nei cavalli in al-

lenamento risultavano essere il *T. equinum* var. *autotrophicum*, *M. canis* e *M. equinum*, mentre in tutti e due i tipi di cavalli fu isolato il *M. gypseum* (9).

A dimostrazione della frequenza con cui viene isolato frequentemente il genere *Tricophyton* da lesioni dermatomicotiche è un lavoro svolto in Hokkaido in cui sui 520 cavalli leggeri e 507 cavalli pesanti l'82,4% dei primi ed il 68,4% dei secondi era risultato infetto da que-

sto genere.

In questo studio è risultato comune anche l'isolamento di miceti appartenenti al genere *Aspergillus spp.* (10), il quale è stato considerato anche causa nel cavallo di cheratomicosi (11) ed è stato isolato in corso di lesioni a livello della mucosa nasale accompagnate da scolo muco-purulento ed epistassi (12).

Proprio in relazione dell'isolamento di *Aspergillus spp.* da lesioni cutanee di cavalli abbiamo ritenuto interessante descrivere un episodio di dermatomicosi in cavalli da sella pervenuto alla nostra osservazione, riconducibile ad *Aspergillus spp.* Con esso intendiamo apportare un contributo a tale patologia e nel contempo sottolineare l'importanza dell'*Aspergillus* quale agente responsabile di dermatomicosi opportunistiche, visto anche il contenuto numero di riferimenti bibliografici sull'argomento.

OSSERVAZIONI PERSONALI

L'episodio si è verificato in tre maneggi in cui vivevano rispettivamente tredici, otto e cinque cavalli da sella, femmine e maschi castroni, destinati per lo più a gare di concorso ippico e passeggiate, di età compresa tra i 5 e 13 anni.

Il nostro intervento era stato richiesto nel mese di luglio 1991, perché da quattro settimane nelle tre scuderie 9 cavalli presentavano lesioni cutanee alopeciche.

Queste scuderie erano tutte dislocate in un raggio di un chilometro una dall'altra e pur avendo caratteristiche differenti riguardo alla disposizione dei box, alle loro grandezze ed alla concentrazione degli animali, tutte avevano in comune un'elevata umidità della lettiera ed una scarsa igiene dei ricoveri.

L'anamnesi riferiva che in questi maneggi erano stati introdotti nuovi animali ed alcuni di questi erano stati importati dall'estero; inoltre due cavalli nell'arco dell'anno passato erano stati stabulati a rotazio-



ne nei tre centri.

Dall'anamnesi è scaturito altresì che un cavallo che presentava le lesioni era stato sottoposto a trattamento con un cortisonico ad azione ritardo ed un altro aveva subito un prolungato trattamento antibiotico in relazione ad una presunta tossinfezione tetanica.

L'esame clinico dei soggetti metteva in evidenza in tutti i cavalli lesioni cutanee localizzate in varie parti del corpo: regione della testa,

mascella, padiglioni auricolari esterni, regione della spalla e del garrese, attaccatura della coda ed in alcuni animali tali lesioni erano presenti anche in corona e sul pastorale.

Queste alterazioni si presentavano diverse in relazione alla loro localizzazione ed allo stadio evolutivo. Nella testa ed arti, poveri di peli, erano caratterizzate da chiazze rotondeggianti alopeciche, della grandezza variabile da un bottone



ad una moneta, a margini più o meno regolari; in queste aree la cute era lievemente arrossata e ricoperta di squame biancastre. Nelle regioni della spalla e del garrese le lesioni tendevano a confluire tra di loro interessando vaste aree, i margini erano irregolari e la cute si presentava lievemente arrossata, in alcune zone ricoperta da squame ed in altre da croste determinate da essudati siero-emorragici essiccati.

Tutti i soggetti presentavano modico grattamento ed assenza di segni patologici a carico degli altri organi ed apparati.

A completamento dell'esame clinico dei soggetti, venivano prelevati, sui nove cavalli presentanti le lesioni cutanee, campioni di peli e di croste che furono asportate dal margine della lesione con una pinzetta.

In laboratorio il materiale patologico è stato sottoposto dapprima ad un esame microscopico a fresco e poi colturale utilizzando terreni Sabouraud e Dermatophyte Selective Medium (13).

L'orientamento diagnostico di dermatomicosi conseguente alle notizie anamnestiche, al quadro sintomatologico ed alla risposta dell'esame microscopico a fresco, positivo per ife micetiche, faceva consigliare un trattamento terapeutico a base di bifonazolo in lozione all'1% da somministrarsi una volta al giorno per la durata di 15 giorni. Nelle aree in cui erano presenti croste il trattamento è stato preceduto da una rimozione delle stesse previo ammorbidimento con olio vegetale.

RISULTATI E CONSIDERAZIONI

A distanza di otto giorni dalla semina sui terreni colturali anzidetti, da tutti i campioni venne isolato, con rappresentanza predominante, un micete che fu identificato come *Aspergillus spp.* Anche l'allestimento di ulteriori subcolture permise sempre l'isolamento di detta

specie.

Dopo l'inizio della terapia le lesioni cutanee non si diffusero ulteriormente, le croste caddero dopo 4 giorni e dopo 7-8 giorni la cute non era più arrossata. Alla fine del trattamento durato 15 giorni era possibile notare la ricrescita di nuovi peli nelle regioni alopeciche. Solo su un cavallo il trattamento con bifonazolo comportò all'inizio e per la durata di 2-3 giorni un fenomeno allergico localizzato caratterizzato da arrossamento ed edema nelle zone di applicazione. Peraltro tale reazione scomparve spontaneamente sospendendo per 3 giorni l'applicazione del farmaco e non si presentò quando il trattamento fu ripreso.

Sulla base di quanto osservato ci sembra interessante far rilevare quanto segue.

La sintomatologia caratterizzata da lesioni cutanee alopeciche, l'osservazione microscopica a fresco nonché l'esame colturale ci hanno consentito di riferire l'episodio rilevato ad infezione spontanea da *Aspergillus spp.*.

Il riscontro, in tutti i campioni di peli prelevati, di *Aspergillus spp.*, il suo isolamento nelle subcolture, l'assenza di altri miceti lascia considerare come probabilmente sia primitiva l'infezione sostenuta da tale micete e ciò evidenzia l'importanza dei cosiddetti patogeni opportunisti nel determinismo di manifestazioni cliniche.

Altrettanto interessanti ci sembrano le condizioni ambientali, caratterizzate in tutti e tre gli allevamenti da ricoveri umidi, che hanno svolto un ruolo importante quale fattore predisponente.

Infine ci pare doveroso sottolineare l'attività terapeutica del medicamento risultato altamente efficace, di facile somministrazione e privo di effetti collaterali.



Le foto si riferiscono tutte ad alterazioni cutanee da *Aspergillus spp.*

BIBLIOGRAFIA

(1) MESSIERI, MORETTI: Semiotologia e diagnostica medica veterinaria.

(2) EUZEY J.: Laboratoire de Parasitologie - Ecole Nationale Veterinaire De Lyon.

The laboratory diagnosis of cutaneous and subcutaneous mycoses in animals - Folia-Veterinaria-Latina 1977 Apr.-Jun., Vol.: 7, P. 111.

(3) LA PLACA M.: Principi di Microbiologia.

(4) ADEYEFA C.A.O.: Studies on the nutritional physiology of zoophilic dermatophytes isolated from horses in Ibadan, Nigeria - International Journal of Zoonoses, 1986, Vol.: 13, P.: 273-277.

(5) IHRKE P.J., WONG A., STANARD A.A., VIVRETTE S.L.: Department of Medicine, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis.

Cutaneous fungal flora in twenty horses free of skin or ocular disease - Am. J. Vet. Res. 1988 Jun, Vol.: 49, P. 770-2.

(6) ADEYEFA C.A.: Department of Veterinary Medicine, University of Ibadan, Nigeria.

Dermatomycoses in the horse - Int-J-Zoonoses 1986 Jun., Vol.: 13 P.: 118-23.

(7) MILLER R.I., CAMPBELL R.S.: Department of tropical Veterinary Science, James Cook University of North Queensland, Townsville, Australia.

The comparative pathology of equine cutaneous phycomycosis - Vet-Pathol 1984 May, Vol.: 21, P., 325-32.

(8) HAGENS F.M.: Dermatophyte infections in animals. Tijdschr-Diergeneeskde 1976 Aug 15, Vol.: 101, P.: 885-99.

(9) PASCOE R.R.: Studies on the prevalence of ringworm among horses in racing and breeding stables - Aust. Vet.J. 1976, sep, Vol: 52, P.: 419-21.

(10) TAKATORI K., ICHIJO S., KONISHI T., TANACA I.: Hatano Res. Inst., Ochiai, Hadano-shi, Kanagawa 257, Japan.

Occurrence of equine dermatophytosis in Hokkaido - Japanese Journal of

Veterinary science, 1981, Vol.: 43, P.: 307-313.

(11) MAROLT J., NAGLIC T., HAJSIG G.: Chirurgischen Klinik, Veterinarfakultat, Universitat Zagreb.

Aspergillus oryzae as a cause of keratomycosis in the horse - Tierarztl-Prax, 1984, Vol.: B 12, P. 489-92.

(12) GREET T.R.: Equine Research Station, Balaton Lodge, Newmarket Suffolk.

Nasal aspergillosis in three horses - Vet. Rec. 1981 Nov., Vol.: 109, P. 487-9.

(13) AHO R.: National Veterinary Institute, Helsinki, Finland.

Mycological studies on Microsporum equinum isolated in Finland, Sweden and Norway - J. Med. Vet. Mycol 1987 Aug, Vol.: 25, P.: 255-60.

Si ringrazia la Dott.ssa Rita Pagiotti dell'Istituto di Micologia Agraria dell'Università degli Studi di Perugia per la preziosa collaborazione riguardante l'isolamento e la tipizzazione dei miceti.



(*) Il S.Ten. Luigi Liberti, nato a Lucca il 11/06/64, ha conseguito la laurea in Medicina Veterinaria

presso l'Università degli Studi di Perugia nel 1990.

Allievo Ufficiale del 99° Corso AUCV, ha espletato il servizio di prima nomina in qualità di Ufficiale Veterinario Addetto presso il Distretto Militare di Perugia.

Attualmente, in qualità di S.Ten.Co.Vet. in ferma biennale presta il proprio servizio presso il 12° Comando Operativo Territoriale di Perugia.



(**) Il Prof. Beniamino Tesei si è laureato in Medicina Veterinaria presso l'Università degli Studi di Perugia nel 1978 con il massimo dei voti e lode ed ha poi svolto

il Servizio Militare presso il Centro Studi del Corpo Veterinario Militare in Roma.

La sua carriera universitaria, svolta presso l'Università di Perugia, lo ha visto dapprima volontario e borsista presso l'Istituto di Malattie Infettive e dal 1983 in ruolo presso l'Istituto di Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinaria. Attualmente è professore associato di Terapia Medica Veterinaria nell'Università di Perugia nonché docente presso l'Università degli Studi di Camerino.

È autore di circa 70 pubblicazioni scientifiche e socio di numerose società specialistiche del settore veterinario.

NORMATIVE SANITARIE RELATIVE AI CAVALLI SPORTIVI E DA COMPETIZIONE E CONTROLLI DIAGNOSTICI SU SOGGETTI IMPORTATI ED ESPORTATI (1982-1992)

Codazza D. (*), Sala V. (), Cugini F.P. (***), Gerola L. (****).**



RIASSUNTO

Le disposizioni normative relative all'importazione ed all'esportazione degli equini hanno subito nel corso degli anni ripetute modifiche, fino alla recente applicazione della Direttiva CEE 90/426. I dati degli accertamenti sierodiagnostici per anemia infettiva, arterite virale, rino-pneumonite, morva, metrite contagiosa (CEM77) e morbo coitale maligno, eseguiti nel nostro Istituto nel periodo 1982-1992, consentono una visione globale della situazione sanitaria alla vigilia dell'applicazione della Direttiva.

SUMMARY

Sanitary procedure concerning equine import-export has been modified following the indications of the recent EEC Directive 90/426. The results of diagnosis for E.I.A., E.V.A., E.R.P., Dourine, Glanders and Contagious Equine Metritis gave a correct view of sanitary reality of traveller horses.

I grandi spostamenti degli equini sono stati nel tempo motivati da eventi storici, di volta in volta legati a conflitti o mutamenti socio-economici; attualmente essi interessano quasi esclusivamente l'importazione o l'esportazione per manifestazioni ippico-sportive, oppure a scopo di riproduzione o di macellazione.

Ciò può essere all'origine di gravi problemi sanitari, legati tanto alla possibile diffusione di malattie infettive ed infestive nei Paesi destinatari, quanto e soprattutto al potenziale ruolo vettoriale svolto dagli equini a vantaggio di alcuni agenti eziologici zooantropozoonosi; la rapidità dei trasporti per via aerea potrebbe oggi amplificare i rischi sanitari (Codazza, 1987; Corrado, 1988).

Attualmente l'Italia mantiene rapporti commerciali con un gran numero di Paesi europei ed extraeuropei e fino all'applicazione della Direttiva CEE 90/426 del 26/06/90, il controllo degli equini in transito alla frontiera era basato sul controllo del passaporto, completato di volta in volta dalla verifica del numero di matricola, impresso mediante punzoni ad inchiostro sul labbro inferiore o con ossido di carbonio sotto il troncone della coda o, ancora dalla fotografia in proiezione anteriore e laterale; venivano inoltre controllati i certificati sanitari richiesti in conformità all'art. 50 del DPR 320/54, all'art. 24 della Legge 397/76 e al DM 6/12/76, modificato con DM

1/4/77.

Tali norme operavano con modalità differenziate per gli equini importati per riproduzione o allevamento, regolamentando in modo diverso gli spostamenti dei soggetti destinati alle manifestazioni ippiche o alla macellazione; per gli animali provenienti da Paesi dove sono in atto particolari malattie restano tuttavia in vigore le restrizioni originariamente previste (esempio: Columbia, Venezuela e Messico per le encefalomieliti equine).

La legge 34/68, che stabilisce le norme relative alle malattie esotiche, vieta d'altra parte l'importazione dai Paesi dell'Africa e dell'Asia, esclusa l'ex-URSS (OM 14/6/74); i divieti di importazione sono estesi anche a Malta, Cipro e Portogallo e riguardano anche il semplice transito sul territorio nazionale (Benazzi, 1989).

Per le importazioni dagli Stati Uniti e dal Canada sono ancora in vigore le misure previste dal telegramma 600/3/430/AG/9846 del 12/12/89, relativamente ad arterite virale equina, encefalite dell'est e dell'ovest, encefalite venezuelana e stomatite vescicolare.

A far data dal 1° gennaio 1992, l'applicazione della Direttiva 90/426 ha agevolato i movimenti degli equini nell'ambito della CEE attraverso la semplificazione degli accertamenti diagnostici, tenendo tuttavia solo in parte conto delle indicazioni siero-epidemiologiche disponibili; in precedenza veniva infatti richiesta, per i soli maschi inte-

ri di importazione, di età superiore ai 12 mesi e destinati all'allevamento, la sieronegatività nei confronti del morbo coitale maligno (DM 6/12/76; DM 1/4/77).

Per i cavalli di età superiore ai 6 mesi era inoltre prevista l'immuno-diffusione in gel di agar (AGID test) per la diagnosi di anemia infettiva, anch'essa da eseguire nei trenta giorni precedenti l'entrata in Italia; il limite poteva essere innalzato fino a 12 mesi in caso di certificazione attestante la provenienza da un allevamento indenne.

Con il DM 7/3/92 sono state autorizzate all'esecuzione della sierodiagnosi di EIA tutte le sezioni (centrali e periferiche) degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali.

Quanto stabilito dalla Direttiva in esame ha inevitabilmente portato al superamento dell'art. 50 del DPR 320/54; esso subordinava l'importazione degli equini all'adempimento delle condizioni poste dall'art. 49 (certificati di origine e sanità, esito favorevole della visita veterinaria di confine). Prescriveva inoltre la malleinizzazione, eccezion fatta per i cavalli temporaneamente importati per manifestazioni sportive: per questi ultimi era sufficiente una certificazione di provenienza da un allevamento indenne, in conformità con quanto previsto dal DM 6/12/76.

Gli equini da macello dovevano invece essere contraddistinti nel paese di origine con un marchio riproducente la lettera M (macello) e sottoposti con esito favorevole alla

malleinizzazione nei 15 giorni precedenti la spedizione; i dubbi ripetutamente suscitati da queste facilitazioni normative sono stati nel tempo giustificati dalla destinazione di parte di questi animali a scopi diversi dalla macellazione (Codazza, 1990).

Le normative sopra elencate vengono di fatto superate dalla stessa direttiva CEE 90/426, che prescrive in modo dettagliato le certificazioni di scorta agli equini da introdurre nel flusso commerciale comunitario; per animali di alta genealogia è prevista una documentazione di riconoscimento (art. 1) e per gli altri equini una dichiarazione conforme all'art. 2, ma in entrambi i casi non sono richiesti accertamenti diagnostici.

Resterebbero comunque in vigore le misure sanitarie previste dai telegrammi 600/3/24440/AG del 3/5/80 e 600/3/24440/AG/65/2885 del 2/7/80 per la prevenzione della metrite contagiosa equina; esse prevedono l'esecuzione di tre accertamenti batteriologici successivi (a distanza di almeno 7 giorni) sui riproduttori (stalloni e fattrici gravide e non) importati, a titolo temporaneo o definitivo o reintrodotti, da Inghilterra, Irlanda, Francia, Stati Uniti e Australia. Sono esclusi i cavalli di età inferiore ai due anni o quelli destinati a manifestazioni sportive, purché scortati da certificati che attestino l'indennità degli ippodromi e degli allevamenti in precedenza frequentati e l'assenza di contatti potenzialmente infettanti con riproduttori.

Particolare rilevanza assumono in questo contesto i dati relativi alle diagnosi sierologiche e batteriologiche eseguite nel nostro Istituto negli anni compresi tra il 1982 ed il 1992, a supporto delle certificazioni sanitarie di idoneità per gli equini in esportazione ed in importazione; esse hanno interessato l'anemia infettiva degli equini (EIA), la rinopneumonia equina (ERP), l'arterite virale equina (EVA), la morva, la metrite contagiosa degli equini

(CEM77) ed il morbo coitale maligno (MCM).

MATERIALI E METODI

Le verifiche diagnostiche prese in esame sono state eseguite su campioni di siero di sangue o su tamponi genitali (uretra, fossetta clitoridea, cervice uterina) provenienti da 3.670 soggetti.

Tecniche diagnostiche utilizzate:

EIA: immunodiffusione in gel di agar (prova di Coggins - DM 4/12/76).

Morva e MCM: fissazione del complemento in micrometodo, modificata da Caporale & coll. (1977).

EVA ed ERP: sieroneutralizzazione su linea cellulare stabilizzata RK13 (rabbitt kidney n. 13), secondo la tecnica descritta da Blythe & coll. (1985); le verifiche sono state condotte al titolo limite positivo di 1:8; questo titolo limite è stato pre-

ISTITUZIONI D I MASCALCIA

CONDUCENTI CON BREVEVITA' E CHIAREZZA
AD ESERCITARE CON SODI FONDAMENTI
LA MEDICINA DE'

C A V A L L I

OPERA DEL CONTE

FRANCESCO BONSI

CON INDICE E TAVOLE ANATOMICHE.

VOLUME PRIMO.



RIMINO MDCCLXXXVI.

NELLA STAMPERIA ALBERTINIANA
CON APPROVAZIONE.

Tabella 1. Prospetto riassuntivo degli accertamenti sierologici e batteriologici eseguiti su equini sportivi e da competizione in movimento con l'estero negli anni dal 1982 al 1992.

ANNO	EIA	MCM	MORVA	CEM77	EVA	ERP
1982	288			134		
1983	290			150		
1984	169			271		
1985	343			182/1		
1986	221	123	37	102		
1987	416	67	30	175		
1988	330	40	40	282		
1989	309	135	72	149	67	1
1990	690	392	185	109/1	367/31	2
1991	527	201	91	88	96/19	3/3
1992	89	64	49	67	22/10	1
TOTALI	3670	1020	502	1609/2	552/60	7/3

Legenda: EIA = anemia infettiva degli equini
MCM = morbo coitale maligno
CEM 77 = metrite equina contagiosa
EVA = arterite virale degli equini
ERP = rinopneumonite equina

soggetti esaminati/soggetti positivi

scelto dopo le opportune verifiche condotte su sieri di controllo.

CEM 77: esame batteriologico, secondo le procedure tecniche a suo tempo descritte da Codazza (1984).

RISULTATI

Gli animali controllati sono quelli trasportati annualmente a cura della principale organizzazione italiana nel settore della movimentazione cavalli.

I riscontri diagnostici sono integralmente riportati nella tabella n. 1, dalla quale emergono le indicazioni seguenti:

EIA: nessun soggetto tra i 3.670 esaminati ha dato esito positivo.

EVA ed ERP: le sieropositività hanno rispettivamente inciso per il 10,87% e per il 42,85%

Morva e MCM: sono stati rispettivamente sottoposti a sierodiagnosi 502 e 1.020 cavalli, in assenza di

riscontri positivi

CEM 77: gli esami batteriologici per la ricerca di *Haemophilus equigenitalis* hanno consentito di identificare 2 soggetti infetti (0,12%).

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Una prima indicazione positiva deriva dalla completa sieronegatività degli equini esaminati nei confronti di anemia infettiva, morbo coitale maligno e morva; per quanto riguarda la metrite contagiosa, i due riscontri di positività riguardano femmine di primo ingresso nel nostro paese e provenienti dall'Inghilterra (anni 1985 e 1990).

Le maggiori percentuali di sieropositività sono state riscontrate nei confronti dell'arterite virale e della rinopneumonite, malattie che si sono progressivamente diffuse nelle popolazioni equine; per la ERP esse possono venire in parte giustifi-

cate dal crescente impiego della vaccinazione specifica (Codazza & Soggi, 1971) e resa obbligatoria, sia pur privatamente, dal Codice Internazionale di Prevenzione della CEM77 anche per il 1992.

Per quanto invece riguarda l'EVA, le spiegazioni possibili consistono nella progressiva diffusione del virus o nell'impiego fraudolento di vaccini non registrati nel nostro Paese.

Tali sieropositività risultano infatti particolarmente evidenti negli animali da macello importati dall'Europa orientale e inducono a pensare ad una larghissima circolazione del virus in quelle popolazioni (Codazza & coll., 1990); è anche importante ricordare che talvolta questi animali vengono sottratti alla macellazione per rientrare nel ciclo commerciale dei cavalli d'affezione, rappresentando in questi casi un grave pericolo per la diffusione di malattie nel nostro Paese.

Pur in presenza di un numero ri-

trovi uno che abbia prodotto l'effetto contrario a quello della citata esperienza.

(VII)

Quando trovasi una bestia ammalata egli è indispensabile di porre ogni studio per rilevare il vero carattere del male. Tale schiarimento comunicato al pubblico dalla umanità di coloro che attualmente sono occupati nel vincere la fatale forza della corrente epidemia, sarebbe stato desiderabile perchè utilissimo, ed avrebbe certamente riscosso l'universale aggradimento. A due classi riduconsi queste contagiose malattie dal cel. Barberet nella sua Mem. sur les maladies epidemiques des Bestiaux pag. 38, perchè dopo d'aver egli considerate le varie parti degli animali che ne sono periti conchiude: Puisque l'on a constamment observé par l'ouverture des cadavres, que toutes les maladies epidemiques des bestiaux étoient ou putrides ou inflammatoires on voit de quelle façon on doit se conduire dans la curation de ces maladies.

Ir

spesso, sia per levare il miasma contagioso aderente al pelo comunicargli dalle loro compagne infette, affinchè egli non abbia campo di penetrar nella cuie; sia per rendere più abbondante e più facile la loro traspirazione. Si tengano a regolato vivere co' soliti alimenti, e nella loro bevanda ordinaria ci si ponga un poco di farina d'orzo, giacchè la semola non si scioglie nell'acqua, come con poco misurata espressione è stato scritto nella Mem. sull' Epizootia regnante. In quest'acqua fatta bianca scioglierassi piuttosto un po' di nitro, oppure le si potrà dare vantaggiosamente una grata acidità con poca quantità di aceto, acciocchè non si ricusi dagli animali bovini. Non v'è chi ignori la delicatezza di queste bestie nel bere, schifandosi perfino dell'acqua stessa, di cui una qualche porzione sia stata preventivamente bevuta da' Cavalli. Ridicolo quindi sarebbe il pretendere, che spontaneamente bevessero l'acqua in cui fosse sciolta la Canfora. Questo corpo resinoso non è punto solubile nell'acqua, e bisogna prima saturarne lo spirito di

vie

dotto di sierodiagnosi, le positività nei confronti della ERP confermano quanto a suo tempo segnalato nel nostro Paese (Vulcano & coll., 1981); a tale proposito è necessario ricordare che il già citato Codice Internazionale di Prevenzione della CEM77 prevede obbligatoriamente la vaccinazione per i riproduttori in uscita dall'Italia.

La completa negatività degli accertamenti nei confronti di EIA, MCM e morva è una indicazione largamente attesa, soprattutto considerando che sono sempre i soggetti qualitativamente migliori ad essere trasportati, mentre le positività relative a ERP ed EVA pongono in termini piuttosto pressanti il problema della tutela del patrimonio equino nazionale nei confronti delle patologie non incluse nei pro-

grammi delle profilassi di Stato.

In una simile situazione l'applicazione delle indicazioni CEE (Direttiva 90/426) potrebbe comportare maggiori rischi di diffusione di alcune delle malattie infettive, soprattutto in previsione di una ulteriore liberalizzazione degli scambi con i paesi extra-comunitari, come ipotizzato dalla recente decisione della Commissione CEE (n. 92/260 del 10 aprile 1992) relativa alle condizioni di Polizia Sanitaria e alle certificazioni veterinarie cui è subordinata l'ammissione temporanea in tutti i Paesi di cavalli di alta genealogia.

La nuova regolamentazione, pur facilitando le operazioni commerciali ed amministrative connesse al trasporto degli equini, potrebbe vanificare parte degli sforzi fino ad

oggi compiuti per preservare le condizioni sanitarie del patrimonio equino degli Stati comunitari.

Meglio sarebbe, a nostro avviso, modificare la programmazione dei controlli, eliminando quelli delle malattie completamente debellate e sostituendoli con altri, relativi alle patologie di nuovo interesse e crescente diffusione (rinopneumonite ed arterite equina). Ciò consentirebbe la tutela della situazione sanitaria raggiunta e l'adeguamento delle indagini alle nuove situazioni epidemiologiche internazionali.

A questo riguardo è opportuno rammentare quanto già avvenuto per CEM77 (Circolare Ministeriale n. 85 del 30/12/1977), EVA (Circolare Ministeriale del 12/12/1989) ed encefalomieliti equine (Circolare Ministeriale del 25 ottobre 1991).

(LXVII)

vino o l' aceto per unire all' acqua un sì eccellente antiseptico; cosicchè in questi casi converrà darlo loro per bocca col solito strumento. Sarà altresì necessario di mantenere ben ripulite e monde le stalle dal fimo, e di rinnovare in esse più volte il giorno l' aria aprendone le porte e le finestre più o meno, secondo la qualità della giornata, e nel tempo che le bestie saranno fuori. Prima che vi ritornino sarà vantaggioso il profumarle a porte chiuse collo zolfo, il quale tramanda aliti acidi atti ad attutire il veleno epidemico, e colla parte sua oleosa e balsamica può anche giovare al petto, invece di servirsi di ginepri, pini, aglio, ed altre cose calose e volatili, le quali offendono il capo, e rendono in certo modo il venefico miasma più attivo, e proprio a passare per la via della respirazione nelle varie aperture della testa, e a' nervi.

(IX)

Si è posto per un buon profilattico rimedio il sale, il quale comechè atto a difendere dalla corruzione gli u-

i 2

mo

BIBLIOGRAFIA

BENAZZI P. (1989). «Il regolamento di polizia veterinaria». Esculapio Editore, Bologna.

BLYTHE L.L., MATTSON D.E., LASSEN E.D. & CRAIG A.M. (1985). «Antibodies against Equine Herpes Virus 1 in the cerebrospinal fluid in the horse». *Can. Vet. J.*, 26, 218.

CAPORALE V.P., NANNINI D. &



(*) Il Prof. Danilo Codazza, laureatosi nel 1967 presso l'Università degli Studi di Milano, ha frequentato il 40° Corso AUCV presso la scuola del Servizio Veterinario Militare di Pinerolo ed ha espletato il servizio di 1ª nomina al IV Reggimento Carabinieri a Cavallo di Milano.

Nel 1969 ha iniziato la carriera universitaria quale Assistente Ordinario presso la Cattedra di Malattie Infettive, Profilassi e Polizia Veterinaria dell'Università di Milano, ove a tutt'oggi svolge attività didattica e di ricerca quale Professore Associato di Patologia Tropicale Veterinaria.

Settori della ricerca riguardano tanto la patologia equina, quanto problematiche relative agli aspetti dell'interferenza biomagnetica e geomagnetica.

Nell'arco della oltre ventennale attività ha pubblicato cento lavori

SEMPRONI G. (1977). «Prove comparative tra deviazione del complemento in provetta, deviazione del complemento miniaturizzata ed immuno-elettro-osmoforesi nella diagnosi sierologica di morbo coitale maligno». *Atti S.I.S.Vet.*, 31, 787.

CODAZZA D. (1984). «Prevenzione della metrite contagiosa degli equini (CEM77): un aspetto essenziale per il rilancio del nostro allevamento in Europa». *Atti Conv. A.N.A.C.* (Roma), 12 maggio 1984.

CODAZZA D. (1987). «Virus al galoppo». *Sci. Vet. e Biol. Anim.*, 4, 6.

CODAZZA D., SALA V., TAGLIABUE S., PICCININI R. & CUGINI F.P. (1990). «Indagini sieroepidemiologiche su equini importati dall'Europa orientale a scopo macellazione». *Il Purosangue in Italia*, 130, 531.

CODAZZA D. & SOCCI A. (1971). «Osservazioni sulla sperimentazione in campo di un vaccino contro la rinopneumonia equina». *Folia Vet. Lat.*, 1, 829.

Codice internazionale di Prevenzione della CEM77 per il 1992. *Il Purosangue in Italia*, 135, 495.

CORRADO A. (1988). «Malattie infettive da importazione». *Atti Convegno Soc. It. Ippol.* (Grosseto), pag. 169.

VULCANO G., FAGIOLO A., AMADDEO D., PIRAGINO S. & ALEANDRI M. (1981). «Su alcune virosi degli equidi allo stato brado: controlli sieroepidemiologici in provincia di Roma». *Atti S.I.S.VET.*, 35, 747.

tecniche e scientifiche su riviste nazionali e internazionali.



(**) Il Prof. Vittorio Sala è nato a Como nel 1953. Nel 1977 si è laureato in Medicina Veterinaria presso l'Università degli Studi di Milano.

Ha prestato Servizio Militare di leva presso il III Gruppo Missili Volturno, congedandosi con il grado di sergente.

Dal febbraio 1980 al luglio 1983 è stato Ricercatore in ruolo presso il reparto di Malattie Batteriche del laboratorio di Medicina Veterinaria dell'Istituto Superiore di Sanità, occupandosi dei controlli di Stato e di registrazione di sieri, vaccini e sostanze diagnostiche per uso veterinario.

Dall'agosto 1983 all'ottobre 1991 è stato Ricercatore Universi-

tario presso l'Istituto di Malattie Infettive, Profilassi e Polizia Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano. Dal novembre 1991 è Professore Associato di Polizia Sanitaria presso la Facoltà di Medicina Veterinaria dello stesso Ateneo.

L'attività di ricerca è compendata in un'ottantina di pubblicazioni scientifiche su riviste nazionali e internazionali.



(***) La Dr.ssa Francesca Pamela Cugini è nata a Genova nel 1957 e si è laureata in Medicina Veterinaria presso l'Università degli Studi di Milano nel 1983.

Attualmente è Tecnico Laureato in ruolo presso l'Istituto di Malattie Infettive, Profilassi e Polizia Veterinaria dell'Università di Milano, dove collabora nell'ambito

del settore diagnostico ed in diversi programmi di ricerca, il che le ha consentito la pubblicazione di diversi lavori scientifici su riviste nazionali.



(****) La Dr.ssa Luigina Gerola ha conseguito la laurea in Medicina Veterinaria presso l'Università degli Studi di Milano nel 1991.

A partire dall'aprile 1988 ha frequentato, in qualità di allievo interno, i laboratori dell'Istituto di Malattie Infettive, Profilassi e Polizia Veterinaria, focalizzando il proprio interesse sull'impiego delle tessutocolture in ambito diagnostico e sperimentale; in questo periodo ha partecipato attivamente alle indagini sierodiagnostiche oggetto della presente pubblicazione.

TRATTAMENTO CHIRURGICO DI UN CASO DI RECISIONE TRAUMATICA COMPLETA DEI TENDINI FLESSORI DELLE FALANGI E LACERAZIONE PARZIALE DEL LEGAMENTO SOSPENSORE DEL NODELLO

Marino M. (*).



Recupero funzionale a 4 mesi dall'intervento.

INTRODUZIONE

Le lesioni traumatiche dei tendini flessori del cavallo rappresentano una patologia gravemente inabilitante che, se associate ad interessamento del legamento sospenditore del nodello, prevedono, solitamente, un trattamento volto unicamente a salvare l'animale per la riproduzione.

Talvolta è però ragionevolmente possibile sperare in un recupero funzionale soddisfacente, purché il legamento sospenditore del nodello non sia completamente reciso.

Il successo è vincolato sì alla riuscita dell'intervento chirurgico, ma anche e soprattutto al sostegno meccanico ed alle cure post-operatorie non disgiunte da una progressiva riabilitazione motoria.

In questo contesto, si ritiene che il caso clinico presentato possa rappresentare un contributo interessante non tanto per la tecnica chirurgica adottata, quanto per l'impiego di un apparecchio di sostegno del nodello specificatamente costruito.

Trattandosi di un arto posteriore era infatti inapplicabile ogni tipo di immobilizzazione rigida che bloccasse l'articolazione del nodello, tenendo anche presente l'indole particolarmente insofferente dell'animale.

Per quanto concerne l'intervento

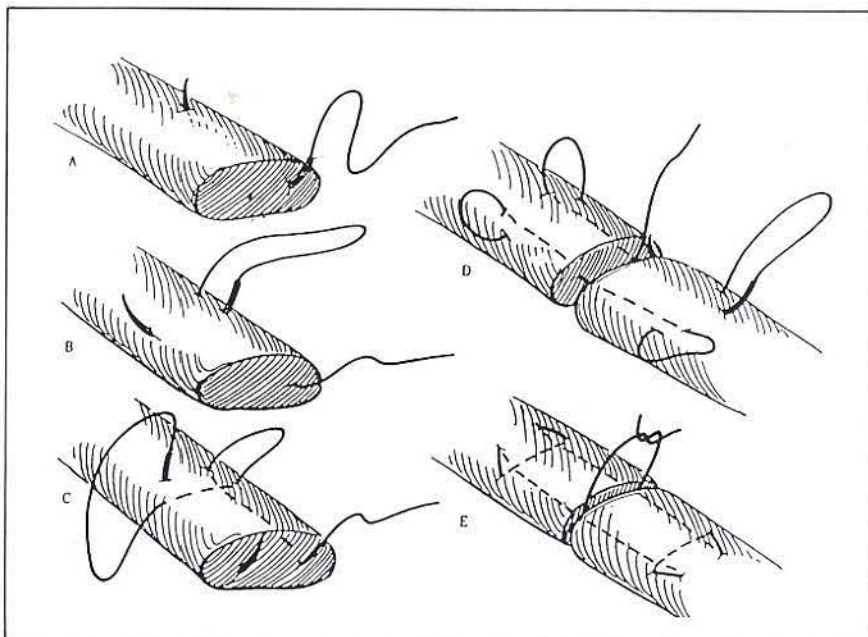


Sopra:

Arto prima dell'intervento. Classico atteggiamento al momento dell'appoggio con abbassamento del nodello (che giungeva a toccare terra) e rotazione della punta del piede verso l'alto, una leggera rotazione verso l'esterno è dovuta alla lesione mediale del legamento sospenditore del nodello.

A destra:

Tecnica di Kessler modificata: l'ago penetra dalla superficie di taglio del tendine ed emerge dalla superficie dorsale (A), quindi viene fatto passare trasversalmente nel tendine, stando su un piano più superficiale rispetto al passaggio precedente (B), poi l'ago viene inserito nuovamente con una direzione longitudinale su un piano più profondo rispetto al filo posto trasversalmente (C), infine si eseguono gli stessi passaggi dall'altra estremità recisa del tendine (D), quindi si tendono le anse una alla volta e si annodano i capi in modo che il nodo rimanga nascosto (E).



chirurgico, non è stato possibile, purtroppo, fornire una adeguata documentazione fotografica delle fasi intraoperatorie, d'altra parte si ritiene che le finalità prefisse da questa segnalazione non siano particolarmente mutilate da tale lacuna.

CASO CLINICO

1. Segnalamento del soggetto:

Cavallo maschio castrato di razza argentina di 10 anni di età.

2. **anamnesi ambientale:** il cavallo vive prevalentemente in pascoli montani e viene impiegato, durante la bella stagione, per turismo equestre.

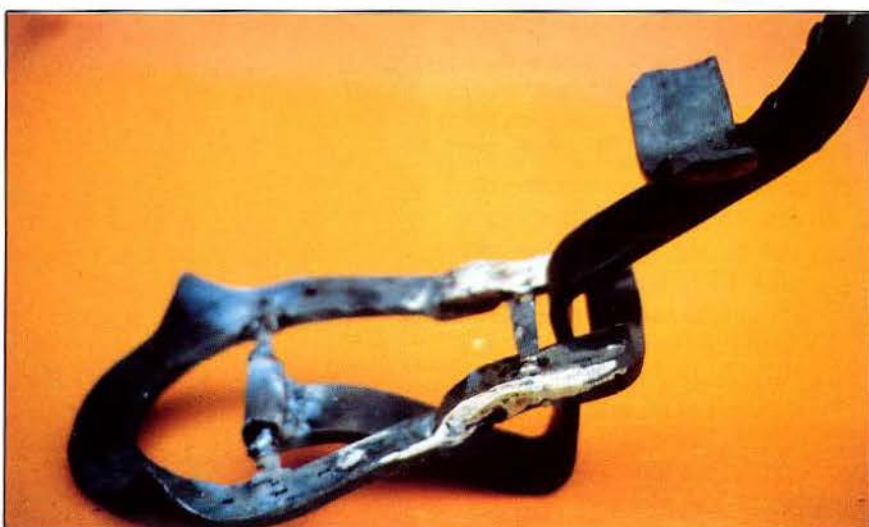
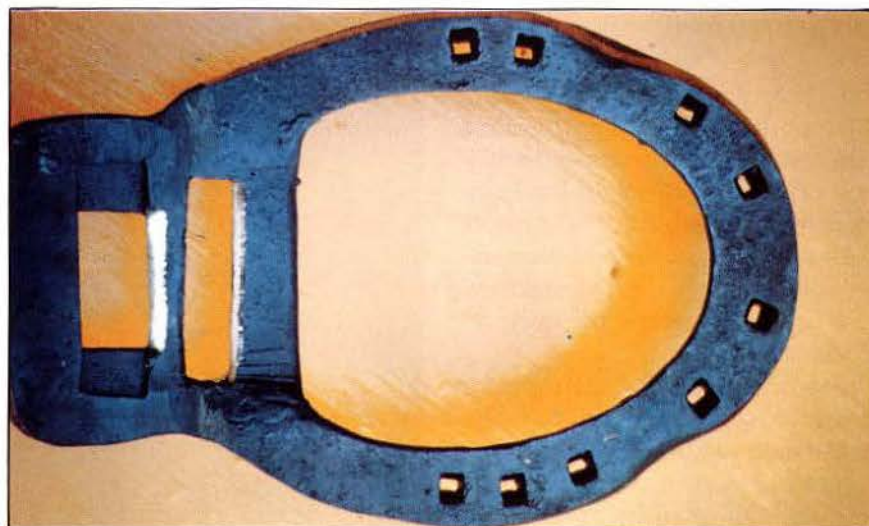
3. **anamnesi prossima:** a seguito di una caduta, in un pascolo declive, dovuta allo scivolamento degli arti posteriori in avanti, lo stinco dell'arto posteriore sinistro dell'animale ha impattato, nella sua parte postero-mediale, contro una pietra tagliente. Il cavallo si è così procurato la completa recisione dei tendini flessori superficiale e profondo delle falangi con lacerazione parziale del legamento sospensore del nodello.

4. **esame clinico:** impossibilità di valido appoggio sull'arto interessato, con abbassamento del nodello sino a terra e rotazione della punta del piede verso l'alto e in fuori.

Durante l'alzata il piede, completamente inerte, era soggetto a movimenti passivi di penzolamento.

5. **trattamento chirurgico:** sutura con un punto ad U in nylon monofilamento del n.2 del legamento sospensore del nodello e doppia tenorrafia con la tecnica di Kessler modificata.

Si è utilizzata questa tecnica perché impiega un metodo di sutura resistente, che interferisce in modo modesto con l'apporto ematico del tendine e lascia solo piccole parti di filo esposte. L'ansa autobloccante incrementa la presa all'aumentare delle tensioni. Come materiale da sutura è stato impiegato del nylon monofilamento del n.2, perché la superficie rugosa dei fili intrecciati



o attorcigliati non avrebbe permesso la scorrevolezza e l'elasticità necessaria per trasferire le tensioni longitudinali alle anse di ancoraggio mentre i fili di acciaio non sarebbero risultati sufficientemente flessibili.

Per ottenere una maggiore resistenza la sutura ad ansa è stata applicata doppia, infatti studi biomeccanici eseguiti in vitro (Easley, K.J., et al. 1989) hanno dimostrato come la doppia sutura ad ansa sia due volte più resistente rispetto ad una singola ansa.

6. **trattamenti post-chirurgici:** impiego di un ortosoma realizzato dai marescialli maniscalchi Vincenzo Blasio e Prisco Martucci della Scuola del Corpo Veterinario Militare di Pinerolo e illustrato nelle fo-

In alto:

Ferro di base utilizzato per la costruzione dell'ortosoma - faccia inferiore.

Sopra:

Ortosoma montato.

to di queste pagine. L'ortosoma è finalizzato al sostegno del nodello durante l'appoggio senza impedire i movimenti di flessione ed estensione del piede nella fase di levata, consentendo, in pratica, il movimento ma non il carico.

Esso è costituito da un ferro normale con una prolunga posteriore atta a permettere il passaggio di un braccio di sostegno destinato a sorreggere il nodello ed incernierato ad un tondino saldato all'orlo interno del ferro a livello dei quarti.

Per evitare l'eccessiva oscillazione del braccio di sostegno, si è provveduto, previa interposizione di cotone per ammorbidire il contatto, a fasciare il braccio stesso al nodello con fasce elastiche. Si è così ottenuto un sistema di sostegno valido e al contempo elastico e ben tollerato dall'animale.

Successivamente è stato applicato un bendaggio rigido di vetroresina che conteneva l'intero stinco, dal nodello al garretto esclusi, proteggendolo da possibili ulteriori traumatismi.

Il gambaleto è stato realizzato con delle fenestrature tali da permettere sia le necessarie medicazioni che la fuoriuscita del drenaggio chirurgico.

Come copertura antibiotica è stata impiegata un'associazione iniettabile di Ampicillina sodica e Dicloxacillina sodica per 20 giorni. Localmente è stata utilizzata acqua ossigenata ed una preparazione in pasta (tubo-siringa per trattamenti endomammari) contenete cloxacillina benzatina.

Come terapia post-chirurgica, limitatamente ai primi 5 giorni è stato impiegato anche del Desametasone sodio-fosfato iniettabile.

Il gambaleto è stato asportato dopo 20 giorni, l'ortosoma dopo 40 gg, il riposo è stato imposto per 2 mesi; dal terzo mese si è lasciato il cavallo libero di muoversi in un paddock pianeggiante. Dopo 4 mesi il cavallo era in grado di trottare e galoppare senza grossi problemi.

CONCLUSIONI

Nonostante la gravità delle lesioni traumatiche che il soggetto presentava, pur trattandosi di un animale di modesto valore economico, il tentativo di recupero non è risultato inutile.

Naturalmente, in questo caso, non è stato possibile ottenere la completa «restitutio ad integrum», infatti, come esito già preventivato

Applicazione dell'ortosoma.

dell'intervento, si è instaurata una tenite cronica che comunque non impedisce al cavallo di svolgere la stessa attività di turismo equestre, non particolarmente intensa, che svolgeva prima dell'incidente.

Nel decorso post-operatorio, particolarmente utile è risultato l'impiego dell'ortosoma, il riposo e la ripresa graduale dell'attività. I tempi di recupero sono da considerare nella media.

L'ortosoma è stato approntato dai marescialli Maniscalchi Vincenzo Blasio e Prisco Martucci istruttori di Mascalda alla Scuola del Corpo Veterinario Militare di Pinerolo.

BIBLIOGRAFIA

TED S. STASHAK - Adams' La zoppicatura nei cavalli - SBM Ed.

MICHELETTI B. - Patologia chirurgica veterinaria e podologia - UTET

A. SIMON TURNER-C. WAYNE



Mc ILWRAITH - Testo di Tecnica chirurgica veterinaria nei grossi animali - UTET

EASLEY, K.J., et al.: In vitro comparison of the mechanical properties of four suture patterns for transected equine tendon. Vet. Surg. In press, 1989.



(*) Il Cap.vet. Mario Marino, proveniente dal 12° Corso NEASMI, ha conseguito la laurea in Medicina Veterinaria e l'abilitazione all'eser-

cizio professionale nel 1986 a Torino. Nello stesso anno è stato nominato Tenente in s.p.e. ed ha ricoperto l'incarico di Direttore dell'Infermeria Quadrupedi della Brigata Alpina Cadore di Belluno.

Specializzato in «Ispezione degli alimenti di origine animale» presso l'Università di Torino e «Malattie dei piccoli animali» presso l'Università di Pisa, riveste attualmente l'incarico di insegnante aggiunto di ispezione degli alimenti ed esercitazioni cliniche presso la Scuola del Corpo Veterinario Militare di Pinerolo e l'incarico di Direttore in S.V. dell'Infermeria Quadrupedi Presidiaria di Pinerolo.

IL NUCLEO MOBILE VETERINARIO

Esempio operativo di Unità veterinaria per Pubbliche Calamità

Baldini G. (*), Medori F. (), Grifoni F. (***), Belfiore F. (****).**

INTRODUZIONE

L'intervento delle Forze Armate nei casi di pubbliche calamità si configura sotto forma di «concorso» in base alla seguente normativa:

- legge 8 dicembre 1970 n. 996;
- legge 11 luglio 1978 n. 382;
- D.P.R. 6 febbraio 1981 n. 66, regolamento di esecuzione della legge 8 dicembre 1970 n. 996;
- Disciplinare MI-G-002 per gli interventi delle Forze Armate in operazioni di Protezione Civile;
- Pubblicazione SMD-G-006 ed. 91.

Il Comando Regione Militare Meridionale, memore del disastroso terremoto del 1980 in Irpinia, organizza annualmente una prova di soccorso che ha come presupposto un evento sismico nel proprio territorio di giurisdizione alla quale partecipano i Servizi Logistici, i Corpi Ausiliari della Croce Rossa Italiana ed i Reparti militari esercitati.

Tale prova ha lo scopo di addestrare i Comandi e le Unità ad attuare le procedure e gli interventi pianificati per fronteggiare situazioni di emergenza in un'area soggetta a rischio sismico.

La simulazione prevede un evento sismico di un dato grado di intensità in una zona prefissata cui seguono, come nella realtà, le prime notizie ad opera di Sindaci, Comandi CC, Polizia di Stato, Guardia di Finanza, radioamatori, Enti e Associazioni varie, privati cittadini, che pervengono alla Prefettura di competenza.

Viene richiesto quindi il concor-



so della Regione Militare Meridionale che alle prime notizie sul sisma allerta i suoi Enti e Reparti e li rende disponibili per l'intervento nella zona terremotata.

Ogni Ente e Reparto interessato, aderendo al piano di intervento per Pubbliche Calamità del Comando Regione Militare Meridionale, attua tutti i dispositivi per portarsi nella zona colpita dal sisma.

Il Comando Regione rimane sempre il tramite tra le Autorità civili e Reparti dislocati nella zona d'intervento.

Vengono simulati quindi interventi sul posto come ricognizioni presso stalle crollate, interventi su animali traumatizzati, costituzione di un «Centro raccolta Quadrupedi», censimenti di magazzini, depositi viveri, impianto tendopoli per famiglie rimaste senza tetto, soccorsi sanitari ai civili coinvolti nel sisma, interventi del Genio per il ripristino della viabilità, trasferimento del treno sanitario della C.R.I. per l'evacuazione dei malati cronici e lungodegenti.

IL NUCLEO MOBILE VETERINARIO

Il Comando del Servizio Veterinario della Regione Militare Meridionale assicura la costituzione, per questo tipo di esercitazioni ed in caso reale di emergenza, di un Nucleo Mobile Veterinario che ha composizione predefinita e compiti specifici, e la cui capacità operativa può essere esplicata su un'area di circa 50 Km di diametro in considerazione sia del personale e dei veicoli a disposizione del Nucleo sia della possibilità di operare in caso di mancanza di collegamenti stradali, su terreni accidentati.

COMPOSIZIONE DEL NUCLEO

Il Nucleo si compone di 16 elementi:

- due Ufficiali veterinari, che hanno compiti specifici di polizia veterinaria, di assistenza zootecnica e di ispezione degli alimenti di origine animale;

— due sottufficiali maniscalchi, che collaborano durante le fasi di assistenza zoiatrica e coadiuvano tutte le altre attività del Nucleo;

— dodici militari di truppa di cui:

- due macellai per compiti di macellazione d'urgenza e non, di disossamento delle mezzene e di lavorazione della carne;
- quattro autisti per la guida degli automezzi a disposizione del Nucleo;
- sei generici con incarichi vari in relazione alle necessità dettate dall'emergenza.

Dispone dei seguenti automezzi:

— una AR/76 per le ricognizioni e gli spostamenti veloci;

— due ACM/80 per il trasporto di personale e materiali;

— un autocontainer frigo per il trasporto di derrate deperibili, afflucati dall'esterno o reperite in zona terremotata.

Per le specifiche attività di competenza utilizza:

— due tende per l'attendamento del personale;

— quattro valigette attrezzate per l'ispezione degli alimenti;

— due bolli sanitari VS;

— un baule di «Pronto Soccorso Veterinario»;

— tre cofani di mobilitazione con farmaci, materiale chirurgico e di medicazione;

— una trousses per necropsia;

— quattro pinze per tatuaggio;

— una cassetta di mascaleia.

Il Nucleo Mobile Veterinario può svolgere, una volta raggiunta la zona delle «operazioni», una complessa attività che varia dall'assistenza zoiatrica d'emergenza all'ispezione nella macellazione d'urgenza, al recupero delle derrate di origine animale, al censi-



mento e al giudizio di idoneità di strutture frigorifere, al censimento del patrimonio zootecnico ed al soccorso agli animali nel campo dei ricoveri e alla loro alimentazione con la costituzione di «Centri Raccolta Bestiame» in collaborazione con il Corpo Forestale dello Stato e gli Ispettorati Provinciali dell'Agricoltura.

I tempi di operatività del Nucleo Mobile Veterinario prevedono un preallarme cui fa seguito una conferma ed un tempo di approntamento di 7 ore.

ATTIVITÀ DEL NUCLEO MOBILE VETERINARIO

Il Nucleo Mobile Veterinario ha partecipato ogni anno, sin dal 1988 alle esercitazioni schierandosi ed operando in diverse località della Regione Militare ad elevato rischio sismico quali Calabria, Campania, Molise e Basilicata.

Fino al 1989 il Nucleo veniva costituito dall'Ufficio Veterinario ed era alle dipendenze del Comando dei Servizi Sanitari; dal 1990 opera in piena autonomia a seguito della costituzione del Comando del Servizio Veterinario di Regione Militare da cui dipende direttamente per l'impiego.

Ciò ha permesso di snellire le

procedure di approntamento, programmazione e gestione del Nucleo in fase di emergenza.

Inoltre il susseguirsi in modo regolare delle esercitazioni in luoghi diversi ha permesso di evidenziare punti critici che si possono riassumere nella difficoltà di raggiungere il luogo delle operazioni e provvedere affinché tutto il personale venga vettoviaggiato e collegato con i livelli superiori in modo da essere sempre pronto a garantire l'intervento in caso di chiamata.

Oggi il Nucleo Mobile Veterinario è inserito nella «tendopoli» del Commissariato Militare pur rimanendo indipendente sotto l'aspetto operativo.

Questa sistemazione ha il vantaggio di una maggiore mobilità in quanto l'aspetto logistico (vettoviaggiamento, attendamento, comunicazioni) è a cura della «tendopoli» e non grava più sull'esiguo numero di personale del Nucleo.

Nell'ultima esercitazione condotta, la «Lucania 92» svolta dal 6 all'8 ottobre 1992, il Nucleo Mobile Veterinario si è schierato con uomini, mezzi e materiali in zona Tito Industriale in provincia di Potenza.

Durante lo svolgersi della prova di soccorso il Nucleo è stato attivato in seguito a segnalazioni di varia natura ed è intervenuto per:

— crollo di una masseria nel comune di Bella (PZ), dove l'Ufficiale veterinario ha prestato soccorso a 5 bovini riportanti traumi dovuti al crollo del soffitto. Due di detti bovini sono stati macellati d'urgenza considerate le gravi condizioni e l'irrecuperabilità degli animali;

— trasporto di 12.000 Kg circa di foraggi in un centro per la distribuzione;

— distribuzione foraggi per le esigenze di un gregge di 1.500 capi circa di ovini causa l'impossibilità di raggiungere il deposito foraggi;

— allestimento sulla strada per Balvano di un «Posto Raccolta Quadrupedi»;

— interventi medici e chirurgici su bovini, ovini e caprini;

— collaborazione con la squadra disinfezione per la distruzione di carcasse di animali morti in seguito a crolli.

CONCLUSIONI

Il Nucleo Mobile Veterinario della Regione Militare Meridionale è la sola unità operativa militare veterinaria che tutt'ora risulta effettuare regolarmente esercitazioni per il concorso in caso di pubbliche calamità.

Tali esperienze, mai ripetitive, sono state utili per verificare il sistema di allertamento, le modalità per la raccolta e la diffusione delle informazioni e le possibilità di ricognizione e di delimitazione dell'area sinistrata.

Esse hanno permesso inoltre di perfezionare la pianificazione in vigore sul territorio e di individuare i limiti e la potenzialità dell'intervento nel più breve tempo possibile per assicurare un soccorso più efficace e tempestivo.

Il Nucleo Mobile Veterinario rappresenta un primo passo per un intervento concreto in caso di eventi calamitosi.

Sulla base dell'esperienza acquisita, si può affermare che ogni Comando di Regione Militare dovrebbe prevedere una analoga struttura Veterinaria.

Fermo restando che la sua azione è limitata nello spazio dalla disponibilità soprattutto di personale, si rileva peraltro che le molteplici esigenze connesse all'attività veterinaria necessitano però un'azione più capillare, accompagnata da maggiore mobilità e rapidità negli spostamenti.

Alla luce delle recenti normative in materia di pubbliche calamità (legge 225 del 24 febbraio 1992 e circolare del Ministero della Sanità n. 11 del 18 marzo 1992), e come insegnamento scaturito dall'ultima esercitazione, si ritiene indispensabile una maggiore collaborazione con scambio di informazioni ed esperienze con i Servizi Veterinari della U.S.L.

Tale collaborazione ha come finalità la conoscenza della mappa-tura delle stalle, dei depositi frigoriferi, dei macelli e dei magazzini presenti sul territorio, in maniera

da ridurre i tempi e razionalizzare al massimo gli interventi. Ciò darebbe una maggiore efficacia all'azione del Nucleo consentendo lo sfruttamento delle risorse già presenti in loco senza bisogno di aspettare l'intervento di aiuti dall'esterno.

In particolare, l'attività di ispezione degli alimenti oggi si limita alla visita delle carni in caso di macellazione «d'emergenza», alla loro bollatura ed al loro trasporto, a temperatura adeguata, in magazzini per lo stoccaggio e la successiva utilizzazione.

Sarebbe auspicabile poter effettuare analisi microbiologiche, utilizzando automezzi attrezzati a laboratorio mobile, si potrebbe così approfondire l'attività ispettiva ed avere una maggiore garanzia sulla salubrità dell'alimento.

Gli autori vedono realizzarsi i sopradetti obiettivi attraverso una «Sezione Veterinaria Mobile» articolata su tre nuclei con specifiche competenze, uno per l'ispezione, uno per l'attività zoiatrica, ed uno per la profilassi e la polizia veterinaria, con mezzi e materiali accantonati in un deposito militare, nonché personale prede-signato.



(*) Ten. Col. Co. vet. Gianpaolo Baldini si è laureato in Medicina veterinaria presso l'Università degli

Studi di Parma nel 1971 ed ha frequentato il 49° corso Allievi Ufficiali di Complemento Veterinari.

In spe dal 1974 ha ricoperto i seguenti incarichi:

— Ufficiale addetto all'Infermeria cavalli presso la Scuola Militare di Equitazione di Montelibretti (Roma);

— Ufficiale addetto al Centro Studi del Servizio veterinario;

— Ufficiale addetto alla Direzione di Veterinaria del X CMT;

— Capo Sezione controllo alimenti dell'Ufficio Veterinario della Regione Militare Meridionale;

— Insegnante titolare di legislazione sanitaria presso la Scuola Militare di Commissariato ed Amministrazione di Maddaloni (CE);

— È Capo del Servizio e Direttore di Veterinaria della RMME dal 26 giugno 1989;

Specializzato in Ispezione degli alimenti di origine animale ha frequentato i seguenti corsi:

«Vigilanza igienico sanitaria ed annonaria dei prodotti alimentari della pesca»;

«Ginecologia veterinaria e fecondazione artificiale»;

«Tecnologia e controllo igienico sanitario dei prodotti caseari».

Tale struttura avrebbe maggiore spazio operativo e una capacità di intervento mirata.

BIBLIOGRAFIA

DI MARCO P.: «Il problema della difesa civile in Italia», in «Ri-

vista militare», 1978, pag. 59 e seg.

BENAZZI P.: Il Regolamento di Polizia Veterinaria (Esculapio Bologna).

CAPPUZZO U.: «Il ruolo dell'esercito nella protezione civile» relazioni al convegno «La protezione civile e calamità naturali». Annuario delle autonomie locali, 1982.

CERAMI A.: «La protezione ci-

vile e la possibilità di concorso delle FF.AA» in «Rivista Militare» 1976, pag. 678.

S.M.D.: Centro Studi Militari — Difesa Civile «La cooperazione civile e militare DC 2», Roma 1983.

CUSSINO F.: Emergenze veterinarie da catastrofi naturali: «Ruolo dell'esercito e protezione civile» (Rivista Militare di Medicina Veterinaria) 1988.



(**) Il Cap.Co.vet.spe Franco Medori si è laureato in Medicina Veterinaria presso l'Università degli Studi di Perugia nell'anno 1983, ha frequentato il 78° corso AUCV ed è stato nominato tenente in spe nel 1985, specializzato con il massimo dei voti in ispezione degli alimenti di origine animale presso l'Università di Napoli, ha ricoperto i seguenti incarichi: Ufficiale addetto alla Sezione Tecnica dell'Ufficio Veterinario della Regione Militare Centrale, Dirigente del Servizio Veterinario al Btg.alp. «L'Aquila», Capo sezione Tecnica all'Ufficio Veterinario della Regione Militare Meridionale, Capo Sezione Segreteria in SV al Comando del Servizio Veterinario della RMME, Ufficiale addetto alla Sezione personale al Comando del Corpo Veterinario.



(***) Il Cap.Co.vet. spe. Fabrizio Grifoni ha frequentato il 14° corso Nucleo Accademia Sanità Militare Interforze, laureandosi in Medicina veterinaria presso l'Università degli Studi di Torino nel 1989;

Tenente in spe dal 1989 ha ricoperto i seguenti incarichi:

— Dirigente del Servizio veterinario del Gruppo artiglieria da montagna «Udine»;

— Capo Sezione Tecnica in sv del Comando del Servizio Veterinario della RMME;

— Comandante del Nucleo Mobile Veterinario durante le Prove di soccorso per pubbliche calamità «Calabria 1991» e «Lucania 1992».

È specializzando in Ispezione degli alimenti di origine animale presso l'Università degli Studi di Napoli «Federico II».



(****) S.Ten.Co.vet. Felice Belfiore

Ha frequentato l'Istituto di Zootecnica dell'Università di Messina in qualità di allievo interno.

Laureato in Medicina veterinaria presso l'Università degli Studi di Messina nel 1991 ha frequentato il 102° corso Allievi Ufficiali di Complemento Veterinari ed è stato nominato S.Ten.vet.cpl in data 16 aprile 1992.

È Ufficiale addetto alla Sezione tecnica del Comando del Servizio Veterinario della RMME ed ha partecipato come Ufficiale Veterinario alla Prova di soccorso «Lucania '92».

È iscritto al 1° anno di Specializzazione in Ispezione degli alimenti di origine animale presso l'Università degli Studi di Napoli «Federico II».

NOTIZIARIO

Dal 24 al 27 settembre 1992 si è svolto a Roma, nello splendido Centro Congressi del «Cavalieri Hilton International Hotel», organizzato dalla Associazione Italiana Veterinari Piccoli Animali, il XVII° Congresso della World Small Animal Veterinary Association con la partecipazione delle seguenti Società specialistiche:

- Association of Veterinary Anaesthetists
- European Society of Veterinary Cardiology
- European Society of Veterinary and Comparative Nutrition
- European Society of Veterinary Dermatology
- European Veterinary Dental Society
- European Society of Veterinary Internal Medicine
- European Society of Veterinary Ophthalmology
- European Society of Veterinary Orthopaedics and Traumatology
- International Society of Veterinary Diagnostic Ultrasound
- European Society of Veterinary Nephrology and Urology, American and European branches
- International Veterinary Ear Nose and Throat Association

Nell'ambito del Congresso, il giorno 27, presso il Salone Conferenze del Centro Studi del Corpo Veterinario Militare, si è svolto un seminario riguardante le metodiche endoscopiche finalizzate alla clinica degli apparati digerente e respiratorio del cane. I relatori, B. Jones e C. Burrow (USA) e U. Gargallo (Spagna), dopo una premessa ed una parte prettamente teorica, hanno illustrato mediante audiovisivi le modalità esecutive e le manualità delle varie indagini.

Ampio spazio è stato dato alla parte pratica con il coinvolgimento dei partecipanti ai quali è stato consentito un approccio diretto a queste metodologie, fondamentali sotto il profilo diagnostico e terapeutico. Nell'ambito della missione PELLICANO si sono avvicendati nel servizio i seguenti ufficiali:

- Cap.vet. Domenico Multari, effettivo all'Ufficio Logistico della RMNO;
- Ten.vet. Luigi Frare, effettivo all'Accademia Militare di Modena;
- Ten.vet. Roberto Grasso, effettivo alla Brigata «Centauro»;
- Ten.vet. Paolo Viola, effettivo al Co-

mando Servizio Veterinario - RMNO; Magg.vet. Walter Di Mari, effettivo al Comando Servizio Veterinario - RMCE; Ten.cpl f.b. Francesco Francaviglia, effettivo al Comando Servizio Veterinario RMSI;

Cap.vet. Pier Paolo Pettinati, effettivo alla Scuola del Corpo Veterinario Militare;

Ten.vet. Salvatore Anastasi, effettivo al Centro Militare Allevamento e Rifornimento Quadrupedi;

Cap.vet. Claudio Cammeresi, effettivo al Reggimento artiglieria a cavallo;

Ten.vet. Giovanni Munaò, effettivo all'Accademia Militare di Modena;

Ten.vet. Riccardo Tontaro, effettivo al Comando Servizio Veterinario RMNE; Magg.vet. Vincenzo Cirrincione, effettivo al Comando Servizio Veterinario RMSI.

Del contingente italiano IBIS, chiamato a svolgere la missione umanitaria a favore della Somalia, fanno parte il Magg.vet. Giovanni Roppolo, Capo Servizio Veterinario della Brigata paracadutisti «Folgore» ed il Ten.vet. Paolo Viola, effettivo al Comando Servizio Veterinario della RMNO.

Il giorno 28 novembre 1992, alla Scuola del Corpo Veterinario Militare in Pinerolo, è stato celebrato il giuramento del 104° Corso AUCV e del 25° Corso NEASMI.

PROMOZIONI

Sono stati promossi al grado superiore, con anzianità a fianco riportata, i seguenti ufficiali:

Ten.Col. Armando Lanzoni, in data 31.12.1992

Ten.Col. Roberto Archilei, in data 31.12.1992

Cap. Walter Di Mari, in data 1.1.1992

Cap. Danilo Prestia, in data 1.1.1992

Cap. Vincenzo Spanò, in data 2.1.1992

Ten. Domenico Multari, in data 31.12.1992

Ten. Claudio Cammeresi, in data 31.12.1992

Ten. Simone Siena, in data 31.12.1992.

CORSI ULTIMATI

— Il Cap.vet. Franco Medori ed il Cap.vet. Roberto Giovagnoli hanno con-

seguito con il massimo dei voti la specializzazione in Ispezione degli alimenti di origine animale, presso la Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Napoli.

— Il Cap. vet. Filippo Gennaro ed il Ten.vet. Flavio Bossi hanno ultimato il corso di aggiornamento in «Anestesiologia e patologia chirurgica equina» presso la Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Parma.

— Il Cap.vet. Pietro Salerno, il Cap.vet. Domenico Multari ed il Ten.vet. Paolo Viola, hanno ultimato il corso di aggiornamento su «Tecnologia e controllo igienico-sanitario dei prodotti lattiero caseari», organizzato dal Comune di Reggio Emilia.

— Il Magg.vet. Marco Reitano ha ultimato il 31° Corso Speciale per Ufficiali dei Corpi Tecnico e Logistico dell'Esercito.

— Il Ten.Col. Stefano Barlozzari ha conseguito il diploma in «Scienze Umanistiche» ed ha ultimato il Corso di perfezionamento in «Legislazione Sanitaria: la catena alimentare», organizzato dalla Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Parma.

TRASFERIMENTI E NUOVE ASSEGNAZIONI

— Il giorno 1 maggio 1992, provenienti dal NEASMI, sono stati nominati Tenenti ed hanno assunto servizio alla Scuola del Corpo Veterinario Militare i seguenti ufficiali: Alfonso Giordano, Pasquale De Leo ed Ermes Canavesio.

— Il Dottor Stefano Manocchio, vincitore di concorso per il passaggio in spe, è stato nominato Tenente con anzianità 12 agosto 1992 ed è stato assegnato al CIM della RMME.

— Il Cap. vet. Franco Medori è stato trasferito dal Comando Servizio Veterinario della RMNO al Comando del Corpo Veterinario dell'Esercito, in data 25 Novembre 1992.

— Il Cap. vet. Giovanni Ruco è stato trasferito dal Comando del Corpo Veterinario dell'Esercito al Centro Studi del Corpo Veterinario Militare, in data 25 Novembre 1992.



1861, Ufficiale del Corpo Veterinario.

